



# Implication des recepteurs nicotiniques $\alpha 7$ dans les deficits mnesiques induits par des injections intra-hippocampiques de peptides amyloïdes-beta (1-42) chez la souris

Pierre Faucher

## ► To cite this version:

Pierre Faucher. Implication des recepteurs nicotiniques  $\alpha 7$  dans les deficits mnesiques induits par des injections intra-hippocampiques de peptides amyloïdes-beta (1-42) chez la souris. Neurosciences [q-bio.NC]. Université de Bordeaux, 2015. Français. NNT : 2015BORD0473 . tel-01281982

**HAL Id: tel-01281982**

**<https://theses.hal.science/tel-01281982>**

Submitted on 3 Mar 2016

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**THESE**  
PRESENTEE A

**L'UNIVERSITE DE BORDEAUX**  
ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE

PAR

**Pierre FAUCHER**

POUR L'OBTENTION DU GRADE DE  
**DOCTEUR**  
SPECIALITE NEUROSCIENCES

---

**IMPLICATION DES RECEPTEURS  
NICOTINIQUES  $\alpha 7$  DANS LES DEFICITS  
MNESIQUES INDUITS PAR DES INJECTIONS  
INTRA-HIPPOCAMPIQUES DE PEPTIDES  
AMYLOÏDES-BETA (1-42) CHEZ LA SOURIS**

---

Thèse soutenue le 11 Décembre 2015

Devant la commission d'examen composée de :

- **Pr Mme GRANON Sylvie** (CNRS UMR 9197, Univ. Paris-Sud).....Rapporteur
- **Dr Mme MATHIS Chantal** (CNRS UMR 7364, Univ. Strasbourg).....Rapporteur
- **Dr Mme ALESCIO-LAUTIER Béatrice** (CNRS UMR 7260 Univ. Aix-Marseille)Examinateur
- **Pr M. BRANCHEREAU Pascal** (CNRS UMR 5287, Univ. Bordeaux).....Président du jury
- **Dr M. BERACOCHEA Daniel** (CNRS UMR 5287, Univ. Bordeaux).....Directeur de thèse
- **Dr LOUIS Caroline** (Institut de Recherches Servier, Croissy sur Seine).....Co-directeur de thèse



## Remerciements

Je voudrais tout d'abord remercier le Dr Jean-René Cazalets, directeur de l'Institut de Neurosciences Cognitives et Intégratives d'Aquitaine pour m'avoir permis de réaliser cette thèse au sein de son laboratoire.

Je remercie le Pr Sylvie Granon ainsi que le Dr Chantal Mathis pour avoir accepté d'évaluer ce manuscrit, ainsi que le Dr Béatrice Alescio-Lautier pour avoir examiné ce travail le jour de la soutenance. Je remercie également le Pr Pascal Branchereau de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury. Je suis très reconnaissant de l'intérêt que chacun d'entre eux ont porté à mon travail ainsi que de leurs remarques pertinentes et constructives.

Je tiens bien évidemment à remercier mes deux directeurs de thèses, les Drs Daniel Beracochéa et Caroline Louis pour m'avoir accompagné tant sur le plan professionnel qu'humain tout au long de ces trois années de thèse. Daniel, merci pour m'avoir permis de réaliser cette thèse, mais également merci pour m'avoir guidé, écouté et soutenu au cours de ces trois années. Votre bonne humeur ainsi que votre faculté à relativiser « *wait and see* » auront été une source de motivation au quotidien. Caroline, merci pour vos encouragements et votre expertise statistique et pharmacologique ainsi que pour vos qualités humaines et votre sympathie. Veuillez trouver ici ma plus profonde gratitude pour m'avoir fait confiance, laissé exprimer mes idées et m'avoir soutenu tout au long de ces trois années de travail.

Je souhaite également remercier ici l'ensemble de l'Institut de recherches Servier sans qui ce projet n'aurait pas pu être réalisé, et plus particulièrement les personnes que j'ai pu côtoyer au cours de ces trois années (Caroline Louis, Guillaume Das Dores, Marie-Hélène Gandon, Anne Hugot, Dorothée Sicard et Laurence Danobert). Qu'ils trouvent ici mes plus sincères remerciements pour l'aide théorique et pratique qu'ils m'ont apporté.

Mes remerciements s'adressent également à l'ensemble de l'équipe *MINDS* « Memory Interaction Networks Drugs and Stress » dirigée par les Drs Daniel Beracochéa et Vincent David. Plus particulièrement je souhaite remercier le Dr Nicole Mons aka Mme Immuno aka La Manouche du Café, pour son aide précieuse pour les analyses moléculaires et pour le temps qu'elle a pris pour la relecture du manuscrit et du premier article, et ses nombreux commentaires toujours pertinents. Un grand merci à toi Nicole pour ta gentillesse, et ta faculté à dégueulasser la machine à café à chaque fois que tu l'as utilisée. Mes remerciements vont également au Pr Jacques Micheau, qui m'a initié au monde de la recherche en master 2, pour

ses conseils avisés ainsi que pour nos discussions scientifique ou non. Merci également au Dr Vincent David pour son expertise sur les récepteurs nicotiniques et son aide apportée tout au long de ce travail, ainsi qu'aux autres membres de l'équipe le Pr Jean-Louis Guillou, le Dr Marc Corio. Merci également à l'ensemble du personnel technique (Laurence Decorte et Nadia Henkous), et animalier (Dominique Panzeri, Nathalie Argenta et Elodie Poinama) qui ont grandement contribué à la réalisation de ces travaux.

Voici venue l'heure de remercier un certain nombre de mes camarades étudiants avec qui j'ai pu partager les joies et les galères de la vie de thésard. Je commencerai par remercier chaleureusement Malorie qui m'a tout appris lorsque je suis arrivé dans le labo en master 2 et à Lolo alias LBB. Malo, encore désolé pour ces allers-retours incessants entre ton bureau et la salle de chirurgie pendant la rédaction de ta thèse. Un grand merci à tous les deux pour tous ces bons moments et toutes ces soirées jeux/patates dans l'jus. Merci également à ceux de ma génération Gaëlle, Fabien (Albert !!) et ses histoires de péruviens toujours rocambolesques, Chloé (Cloclo, Bouclette) pour sa gentillesse et les bons moments qu'on a passé ensemble, Virginie et ses mimiques inimitables, Angélique notre livreuse de fromage auvergnat préférée et bien évidemment à Marianne Du Son (MH) pour avoir supporté mes blagues à deux balles et nos chansons remixées.

Enfin je finirais par remercier mon compère de toujours dans le labo : Thomas qui a dû me supporter pendant 4 ans comme colocataire de bureau. Un grand merci à toi pour ta constante bonne humeur, ton aide précieuse (notamment pour fusionner les cellules et faire des raccourcis clavier...) et pour tous les fous rires qui ont été nombreux surtout lors des derniers mois de rédactions du manuscrit. Merci également pour t'être occupé de la maison pendant mes vacances et pour les nombreuses soirées passées avec les Braydagnas. Je te souhaite le meilleur à Toronto en espérant que ton appart soit assez grand pour nous y accueillir!!!

Je souhaiterais également remercier de nombreuses personnes « hors labo » et notamment toute ma bande de Michel qui m'ont permis de décompresser et de passer des moments mémorables : Bono, KB aka Tonton Riton, Guigui, Coincoin, Le diable Seb, Boulette, Peg, Julie, Rox, Fanfan la Stat, Popo, Seb, Yann, Mimi, Ragga, Lolo, Grand Flo, Ludo, Elise, Flo, Laure-Audrey, Marjo, Anne-So et tous ceux que j'oublie...

Mes derniers remerciements iront tout naturellement mes parents et ma sœur qui m'ont soutenu tout au long de mon cursus universitaire (malgré les moments difficiles) et qui ont toujours cru en moi ainsi que toute ma famille et belle-famille. Enfin, je finirais par remercier Margot et notre petite Lucie pour tout le bonheur qu'elles m'ont, et continuent de m'apporter au quotidien.



## Avant propos

Ce travail de thèse a été effectué au sein de l'Institut de Neurosciences cognitives et Intégratives d'Aquitaine (CNRS UMR 5287) dirigé par Jean-René Cazalets sous la direction du Dr Daniel BERACOCHEA et en partenariat avec le Dr Caroline LOUIS de l'Institut de Recherches Servier. Ce travail fait l'objet d'une publication soumise et de deux communications affichées.

### Publications avec comité de lecture

**Faucher P**, Mons M, Micheau J, Louis C and Beracochea D. Oligomeric assemblies of amyloid-beta peptide (1-42) injected in the dorsal hippocampus induce long-lasting working memory deficits and sustained alteration of ERK signaling pathway (Frontiers in aging neuroscience, sous presse)

### En collaboration

Dominguez G, **Faucher P**, Henkous N, Krazem A, Beracochea D. Stress induced a functional switch from dorsal hippocampus to medial prefrontal cortex during memory retrieval: key role of regional corticosterone concentrations. Frontiers in Behavioral Neuroscience (2014)

### Communications affichées

**Faucher P.**, Mons N., Micheau J., Louis C., Beracochea D. Chronic A $\beta$  (1-42) injections into the dorsal hippocampus of middle-age mice induce specific long-lasting working memory impairments, *12<sup>e</sup> colloque de la Société des Neurosciences Françaises, Montpellier, 19-22 mai 2015.*

**Faucher P.**, Mons N., Micheau J., Louis C., Beracochea D. Chronic A $\beta$  (1-42) injections into the dorsal hippocampus of middle-age mice induce specific long-lasting working memory impairments, *Journée scientifique l'Ecole Doctorale Sciences de la Vie et de la Santé, Arcachon, 9 avril 2015.*

### Travaux de Master 2

**Faucher P.**, Mons N., Micheau J. Acute stress and hippocampal glucocorticoid receptor modulation impair memory consolidation for contextual fear conditioning, *45<sup>th</sup> European Brain and Behaviour Society meeting, 6-9 september 2013, Munich, Germany.*





## Résumé

Bien que la maladie d'Alzheimer (MA) soit la cause de démence la plus fréquente, les mécanismes qui sous-tendent les déficits cognitifs chez les patients restent mal connus. Cependant, les peptides amyloïdes ( $A\beta$ ) semblent être un acteur majeur impliqué dans l'apparition des troubles mnésiques au cours de l'évolution de la maladie, notamment de par leur capacité à induire un hypofonctionnement du système cholinergique associé au déclin mnésique. Sur la base de ces observations, le rôle joué par les récepteurs cholinergiques nicotiniques  $\alpha 7$  ( $\alpha 7$ -nAChRs) a été largement étudié, au vue de leur capacité à interagir avec les  $A\beta$ , sans toutefois dégager un consensus quant à l'implication de ces récepteurs dans les déficits mnésiques induits par les  $A\beta$ .

Afin d'améliorer notre compréhension quant aux mécanismes sous-tendant les effets délétères induits par les  $A\beta$  dans les déficits mnésiques, notre travail visait à identifier le rôle joué par les récepteurs  $\alpha 7$ -AChRs *via* une approche comportementale, pharmacologique et moléculaire. Ainsi, nous avons utilisé un modèle « souris » basé sur des injections de formes oligomériques d' $A\beta_{(1-42)}$  ( $A\beta_{(1-42)}$ ) dans la région CA1 de l'hippocampe dorsal (dCA1), structure cérébrale impliquée dans les processus mnésiques, atteinte de manière précoce dans la MA et exprimant fortement les récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs.

La première partie de cette étude a consisté à mettre au point et à valider notre modèle animal d'étude des effets induits par les  $A\beta_{(1-42)}$  dans le dCA1 par une approche comportementale et moléculaire. Nous montrons que les injections répétées d' $A\beta_{(1-42)}$  dans le dCA1 induisent une perturbation spécifique de la mémoire de travail alors que la mémoire spatiale est préservée lorsque les performances mnésiques sont évaluées 7 jours après la dernière injection. Nous avons également montré que cette perturbation de la mémoire de travail est associée à une absence d'activation/phosphorylation de ERK1/2 au sein du réseau hippocampo-frontal et septo-hippocampique. Ces données nous ont permis de valider notre modèle expérimental permettant d'étudier spécifiquement l'impact des  $A\beta_{(1-42)}$  dans l'hippocampe dorsal.

Dans une seconde partie, nous nous sommes focalisés sur le rôle joué par les récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs dans les perturbations mnésiques induites par les  $A\beta_{(1-42)}$ . Nos résultats montrent que (1) les souris KO $\alpha 7$  ne présentent pas de déficits de mémoire de travail consécutivement aux injections intra-dCA1 d' $A\beta_{(1-42)}$ , (2) les déficits mnésiques ainsi que la la perturbation de l'activation de ERK1/2 induits par les  $A\beta_{(1-42)}$  sont compensés par des traitements pharmacologiques agoniste partiel et antagoniste des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs, (3) le traitement par un agoniste complet des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs ne permet pas de prévenir les déficits mnésiques. Au regard de ces résultats, le récepteur  $\alpha 7$ -nAChRs semble être essentiel au développement des déficits mnésiques induits par les  $A\beta_{(1-42)}$ , et l'utilisation d'antagonistes de ces récepteurs pourraient être une cible potentielle pour le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques.

# Abstract

Although Alzheimer's disease (AD) has been considered as one of the major causes for dementia, the mechanisms by which cognitive decline appear still remain unclear. However, amyloid- $\beta$  peptides ( $A\beta$ ) seem to play a central role in the appearance of memory impairments in the time course of the disease, inducing down-regulation of the cholinergic system which is associated with cognitive decline. Based on these observations, the role of  $\alpha 7$  nicotinic receptors ( $\alpha 7$ -nAChRs) which can interact with  $A\beta$  was widely studied without consensus about the involvement of these receptors in memory deficits induced by  $A\beta$ .

In order to improve our knowledge about the mechanisms involved in  $A\beta$  side effects, our work aims at identify the role of  $\alpha 7$ -nAChRs *via* behavioral and molecular approaches. Thus, we used a mice model based on injections of oligomeric assemblies of  $A\beta_{(1-42)}$  ( $A\beta_{(1-42)}$ ) in the CA1 field of the dorsal hippocampus (dCA1) which is a brain structure strongly involved in memory processes, precociously affected in the AD and with a high density of  $\alpha 7$ -nAChRs.

The first part of this study was to develop and validate this animal model to study the effects induced by  $A\beta_{(1-42)}$  in the dCA1 by behavioral and molecular approaches. We show that repeated injections of  $A\beta_{(1-42)}$  in the dCA1 induce a specific disruption of working memory 7 days after the last injection whereas spatial memory is spared. We also showed that working memory disturbance is associated with decreased activation / phosphorylation of ERK1 / 2 in the hippocampo-frontal and septo-hippocampal networks. These data allowed us to validate our experimental model to specifically study the impact of  $A\beta_{(1-42)}$  into the dorsal hippocampus.

In the second part, we focused on the role played by the  $\alpha 7$ - nAChRs receptors in memory disturbances induced by  $A\beta_{(1-42)}$ . Our results show that (1) KO $\alpha 7$  mice do not exhibit working memory deficits consecutively to intra-dCA1  $A\beta_{(1-42)}$  injections, (2) the memory deficits and decreasing activation of ERK1/2 induced by  $A\beta_{(1-42)}$  are offset by pharmacological treatments partial agonist and antagonist of  $\alpha 7$ -nAChRs receptors, (3) treatment with a full agonist of  $\alpha 7$ -nAChRs receptors does not prevent memory deficits . Given these results, the  $\alpha 7$ -nAChRs receptor appears to be essential to the development of memory deficits induced by  $A\beta_{(1-42)}$ , and the use of antagonists of these receptors might be a potential target for developing new therapeutic strategies for AD.

# **SOMMAIRE**



<b>Résumé .....</b>	<b>9</b>
<b>SOMMAIRE .....</b>	<b>11</b>
<b>Liste des abréviations.....</b>	<b>19</b>
<b>Liste des figures .....</b>	<b>21</b>
<b>INTRODUCTION GENERALE .....</b>	<b>23</b>
<b>Partie I : Caractéristiques physiologiques et moléculaires de la maladie d’Alzheimer .....</b>	<b>25</b>
<b>I. La maladie d’Alzheimer – Généralités .....</b>	<b>25</b>
1. Historique.....	25
2. Histopathologie de la MA .....	27
A. Les lésions macroscopiques .....	27
<i>a. Les atteintes régionales.....</i>	<i>27</i>
<i>b. Les altérations neurochimiques .....</i>	<i>28</i>
B. Les lésions microscopiques.....	29
<i>a. Les plaques séniles.....</i>	<i>29</i>
<i>b. Les dégénérescences neurofibrillaires (DNF) .....</i>	<i>29</i>
<i>c. Les pertes neuronales.....</i>	<i>30</i>
<i>d. Les pertes synaptiques.....</i>	<i>30</i>
C. Interactions entre les plaques séniles et les DNF.....	31
D. Autres marqueurs histopathologiques de la MA.....	33
<i>a. L’angiopathie amyloïde cérébrale .....</i>	<i>33</i>
<i>b. L’inflammation cérébrale.....</i>	<i>34</i>
<i>c. Les corps de Lewy .....</i>	<i>34</i>
3. Les symptômes associés à la pathologie .....	35
A. Les troubles cognitifs .....	35
<i>a. La Mémoire de travail.....</i>	<i>35</i>
<i>b. Les mémoires déclaratives .....</i>	<i>36</i>

c. Les mémoires non-déclaratives.....	37
d. Autres déficits.....	37
B. Les symptômes neuropsychiatriques .....	38
C. Evolution de la symptomatologie .....	39
4. Les facteurs de risques :.....	40
A. Les formes familiales.....	40
B. Les formes sporadiques.....	41
<b>II. Les acteurs moléculaires de la MA .....</b>	<b>42</b>
1. La cascade amyloïde et le peptide A $\beta$ .....	42
A. L'APP .....	42
B. La protéolyse de l'APP .....	43
a. La voie non-amyloïdogénique .....	44
b. La voie amyloïdogénique .....	45
C. Le peptide A $\beta$ .....	46
a. Le processus d'agrégation du peptide A $\beta$ .....	47
b. Les formes solubles du peptide A $\beta$ (sA $\beta$ o) et leur neurotoxicité.....	48
<b>III. Peptide A<math>\beta</math><sub>(1-42)</sub> et hypothèse amyloïde.....</b>	<b>50</b>
<b>IV. Les modèles animaux de la MA.....</b>	<b>53</b>
1. Les modèles murins transgéniques .....	53
2. Les modèles d'injections intracérébrales d'A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> .....	54
A. Les injections intracérébro-ventriculaires (i.c.v).....	54
B. Les injections intra-hippocampiques .....	55
<b>Partie II : L'hippocampe: Rôle dans les processus mnésiques et atteinte</b>	
<b>    dans la maladie d'Alzheimer.....</b>	<b>57</b>
<b>I. Anatomie de l'hippocampe .....</b>	<b>57</b>
1. Cytoarchitecture de l'hippocampe .....	57
2. Les connections intra-hippocampiques.....	57

3. Les connections extrinsèques de l'hippocampe .....	58
<b>II. L'interaction hippocampe-cortex préfrontal et la MA .....</b>	<b>59</b>
1. Interactions structurelles et neurofonctionnelles hippocampo-préfrontales .....	59
2. Intérêts dans la MA .....	61
<b>III. La boucle septo-hippocampo-septale et la MA .....</b>	<b>61</b>
1. Le septum.....	61
2. Les interactions structurelles et fonctionnelles septo-hippocampo-septales.....	62
A. La voie septo-hippocampique : .....	63
B. La voie hippocampo-septale .....	63
<b>Partie III : Implications du système cholinergique dans la maladie</b>	
<b>d'Alzheimer .....</b>	<b>65</b>
<b>I. Le système cholinergique – Généralités .....</b>	<b>65</b>
1. L'acétylcholine.....	65
2. Les neurones cholinergiques .....	66
<b>II. L'hypothèse cholinergique.....</b>	<b>67</b>
1. L'hypothèse cholinergique classique .....	67
2. L'hypothèse cholinergique reformulée .....	69
<b>III. Relations entre l'hypothèse amyloïde et l'hypothèse cholinergique .....</b>	<b>71</b>
1. Impacts des peptides A $\beta$ sur la synthèse et la dégradation de l'ACh .....	71
2. Implication des récepteurs nicotiniques dans la MA .....	73
A. Généralités sur les récepteurs nicotiniques .....	73
B. Les récepteurs nAChRs dans la MA .....	74
3. Les récepteurs $\alpha 7$ -nAChRs .....	75
A. Structure, localisation et fonction du récepteur $\alpha 7$ -nAChR.....	75
a. $\alpha 7$ -nAChRs et perméabilité calcique.....	78
b. $\alpha 7$ -nAChRs et transmission glutamatergique .....	78
B. $\alpha 7$ -nAChRs et plasticité synaptique.....	79



C. $\alpha 7$ -nAChRs et mémoire .....	79
4. Le récepteur $\alpha 7$ -nAChRs dans la MA.....	80
A. L'interaction $A\beta/\alpha 7$ -nAChRs .....	81
B. Conséquences fonctionnelles de l'interaction $A\beta_{(1-42)}/\alpha 7$ -nAChRs.....	82
a. <i>Effets sur la régulation des <math>\alpha 7</math>-nAChRs</i> .....	82
b. <i>Effets sur les voies de signalisation intracellulaires</i> .....	83
c. <i>Effets in vivo (KO-<math>\alpha 7</math> et pharmacologie)</i> .....	84
<b>Objectifs de l'étude.....</b>	<b>87</b>
<b>MATERIELS ET METHODES .....</b>	<b>89</b>
<b>I. Animaux .....</b>	<b>91</b>
<b>II. Chirurgie stéréotaxique et histologie .....</b>	<b>91</b>
<b>III. Injections intracérébrales d'<math>A\beta</math> (1-42).....</b>	<b>92</b>
<b>IV. Préparation et dosage de la solution contenant le peptide <math>A\beta_{(1-42)}</math>.....</b>	<b>93</b>
<b>V. Pharmacologie .....</b>	<b>93</b>
1. Voie d'administration .....	93
2. Molécules utilisées.....	94
<b>VI. Procédures comportementales .....</b>	<b>94</b>
1. L'alternance spontanée .....	94
A. L'appareil :.....	95
B. Procédure (Fig.25) .....	95
C. Paramètres mesurés.....	96
2. Mémoire de travail en piscine de Morris .....	97
A. L'appareil .....	97
B. Procédure .....	97
C. Paramètres mesurés.....	98
3. L'alternance forcée différée .....	98
4. Analyses statistiques .....	100

<b>VII. Etudes biomoléculaires .....</b>	<b>100</b>
1. Immunohistochimie .....	100
A. Perfusion et préparation des cerveaux .....	100
B. Procédure générale.....	100
C. Anticorps primaires utilisés : .....	101
D. Quantification des marquages immunohistochimiques et analyses.....	101
2. Dosage de la ChAT.....	102
A. Préparation des échantillons .....	102
B. Procédure de dosage de la ChAT.....	102
<b>CHAPITRE I .....</b>	<b>103</b>
<b>Chapitre I : Impact d'injections d'A<math>\beta</math>o(1-42) dans le CA1 de l'hippocampe dorsal sur différentes formes de mémoire et sur les cascades moléculaires associées .....</b>	<b>105</b>
I. Intoduction .....	105
II. Méthodologie.....	106
III. Principaux résultats et conclusions.....	107
<b>CHAPITRE II.....</b>	<b>151</b>
<b>Chapitre 2 : Implication des récepteurs <math>\alpha</math>7-nAChRs dans les effets délétères sous-tendus par les peptides A<math>\beta</math>o(1-42) .....</b>	<b>153</b>
I. Introduction .....	153
II. Méthodologie.....	155
III. Résultats .....	160
IV. Discussion :.....	173
<b>DISCUSSION GENERALE .....</b>	<b>177</b>
<b>Bibliographie.....</b>	<b>193</b>



## Liste des abréviations

ACh : Acétylcholine  
AChE : Acétylcholine estérase  
ADDL : Ligands diffusibles dérivés des A $\beta$  (A $\beta$ -Derived Diffusible Ligands)  
AICD : Domaine intracellulaire de l'APP (APP IntraCellular Domain)  
APP : Protéine précurseur des amyloïdes (Amyloid precursor protein)  
A $\beta$  : Amyloïde- $\beta$   
A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> : Oligomères d'amyloïde- $\beta$  (1-42)  
ApoE : Apolipoprotéine E  
Ca<sup>2+</sup> : Calcium  
ChAT : Choline acétyltransférase  
CPF : Cortex préfrontal  
CPFm : Cortex préfrontal médian  
dCA1 : CA1 dorsal  
dCA3 : CA3 dorsal  
DNF : Dégénérescence neurofibrillaire  
ERK/ MAPK : Extracellular signal-regulated signal / Mitogen-activated protein kinase  
GABA : Acide gamma aminobutyrique  
HPC : Hippocampe  
HPCd : Hippocampe dorsal  
IIE : Intervalle inter-essai  
IL : Cortex infra-limbique  
MA : Maladie d'Alzheimer  
MCI : Mild cognitive impairment  
nAChRs : Récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine  
PKA : Protéine kinase A  
PL : Cortex pré-limbique  
PLT : Potentialisation à long-terme  
PS1 / PS2 : Préséniline 1 / Préséniline 2  
PSEN 1 / PSEN 2 : Gènes codant pour les présénilines 1 et 2  
SL : Septum latéral  
SM : Septum médian  
 $\alpha$ 7-nAChR : Récepteur nicotinique  $\alpha$ 7



## Liste des figures

### INTRODUCTION GENERALE

**Fig. 1 :** IRM montrant une réduction de l'hippocampe et une dilatation des ventricules et des sillons corticaux chez un patient atteint de MA

**Fig. 2 :** Plaques séniles mises en évidence par un marquage à l'argent

**Fig. 3 :** DNF mises en évidence par une coloration hématine-éosine

**Fig. 4 :** Apparition des DNF au cours de l'évolution de la MA (Stades de Braak)

**Fig. 5 :** Evolution du dépôt des amyloïdes au cours de la progression de la MA

**Fig. 6 :** Différents systèmes de mémoire atteints au cours de l'évolution de la MA

**Tableau 1 :** Echelle de détérioration globale

**Fig. 7 :** Structure de l'ARN messager de la protéine APP

**Fig. 8 :** Structures des différents types de sécrétases impliquées dans le métabolisme de l'APP

**Fig. 9 :** Représentation schématique de la protéolyse de l'APP - la voie non-amyloïdogène

**Fig. 10 :** Représentation schématique de la protéolyse de l'APP – la voie amyloïdogène

**Fig. 11 :** Processus d'agrégation du peptide A $\beta$

**Fig. 12 :** L'hypothèse amyloïde

**Fig. 13 :** Représentation schématique des différentes connexions intra-hippocampiques

**Fig. 14 :** Représentation schématique de la boucle septo-hippocampo-septale

**Fig. 15 :** Schéma représentatif de la synthèse d'ACh

**Fig. 16 :** Représentation schématique des principales voies cholinergiques chez le rongeur

**Fig. 17 :** Représentation schématique des modifications apparaissant au niveau des neurones cholinergiques au cours du vieillissement et des stades précoces de la MA

**Fig. 18 :** Représentation schématique des récepteurs nicotiniques homo et hétéropentariques

**Fig. 19 :** Voies de signalisations intracellulaires activées par les récepteurs nAChRs

**Fig. 20 :** Distribution des différents sous-types de récepteurs nAChRs au niveau cérébral

**Fig. 21 :** Représentation schématique de l'organisation des sous-unités du récepteur  $\alpha 7$ -nAChR

**Fig. 22 :** Différents états du récepteur  $\alpha 7$ -nAChRs

**Fig. 23 :** Différents sites pharmacologiques du récepteur  $\alpha 7$ -nAChR

### MATERIELS ET METHODES

**Fig. 24 :** Localisation des sites d'injection des peptides A $\beta_{(1-42)}$  au niveau de l'hippocampe dorsal

**Fig. 25 :** Représentation schématique de la procédure d'alternance séquentielle spontanée

**Fig. 26 :** Représentation schématique de la procédure d'évaluation de la mémoire de travail en piscine de Morris

**Fig. 27 :** Représentation schématique de la procédure d'alternance différée

**Tableau 2 :** Récapitulatif des différents anticorps primaires utilisés au cours de cette étude

## CHAPITRE I

**Fig. 28 :** Plan expérimental utilisé pour réaliser les expériences du chapitre I

## CHAPITE II

**Tableau 3 :** Répartition des différents groupes d'animaux en fonction de leur génotype et des traitements intra-hippocampiques.

**Tableau 4 :** Représentation des différents groupes d'animaux constitués et de l'effectif composant chaque groupe

**Tableau 5 :** Répartition des différents groupes d'animaux des expériences 4 et 5

**Fig. 29 :** Plan expérimental des expériences pharmacologiques ciblant les récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs

**Fig. 30 :** Expression de la ChAT (ng/ml) dans l'HPCd, le CPF, le septum et le striatum chez des animaux ayant reçu des injections intra-hippocampiques de solvant ou d' $A\beta_{(1-42)}$

**Fig. 31 :** Alternance spontanée chez des souris wt et KO $\alpha 7$ -nAChRs ayant reçu un traitement intra-hippocampique de solvant ou d' $A\beta_{(1-42)}$

**Fig. 32 :** Résultats d'alternance séquentielle spontanée lors de l'expérience étudiant les effets du S24795

**Fig. 33 :** Activation de ERK1/2 dans le GD

**Fig. 34 :** Activation de ERK1/2 dans le CA3 dorsal

**Fig. 35 :** Activation de ERK1/2 dans le PL et l'IL

**Fig. 36 :** Activation de ERK1/2 dans le septum (SM et SL)

**Fig. 37 :** Alternance séquentielle spontanée lors de l'expérience visant à étudier les effets du PNU282987

**Fig. 38 :** Alternance séquentielle spontanée lors de l'expérience visant à étudier les effets de la MLA

**Fig. 39 :** Représentation du fonctionnement physiologique de la synapse glutamatergique dans l'HPC.

**Fig. 40 :** Représentation hypothétique du fonctionnement de la synapse glutamatergique dans l'HPC dans les phases précoces de la MA.

# **INTRODUCTION GENERALE**





## Partie I : Caractéristiques physiologiques et moléculaires de la maladie d'Alzheimer

### I. La maladie d'Alzheimer – Généralités

La maladie d'Alzheimer (MA) est considérée comme la première cause de démence et touche à l'heure actuelle plus de 30 millions de personnes dans le monde, engendrant une dépense de plus de 600 milliards de dollars en 2010 (Wimo et al., 2010). Selon l'organisation mondiale de la santé, le nombre de personnes atteintes par cette maladie sera multiplié par 3 au cours des 20 prochaines années, ce qui en fait un enjeu majeur tant sur le plan médical, économique, social, que politique.

#### 1. Historique

Les premières manifestations cliniques de la MA ont été décrites en 1907 par le Dr Alois Alzheimer, *via* l'étude d'une patiente âgée de 51 ans (Auguste Deter) souffrant d'une dégradation progressive de ses facultés cognitives, d'hallucinations, ainsi que de confusion mentale et d'incapacité psychosociale (Alzheimer, 1907 ; Alzheimer et al., 1995 pour traduction anglaise). Les analyses post-mortem effectuées sur son cerveau révélèrent la présence de plaques et d'enchevêtrements neurofibrillaires. Ces découvertes suscitèrent un vif intérêt et ont conduit à ouvrir un vaste champ de recherche dans les domaines des neurosciences et de la neuropsychiatrie.

Plus généralement, les symptômes cliniques de la MA se manifestent par une diminution du poids et du volume du cerveau, ainsi qu'une perte neuronale dans des régions spécifiques du cerveau (Gomez-Isla et al., 1996 ; Huang et Mucke, 2012) associées à un déclin cognitif, comprenant dans les phases précoces de la maladie, des pertes de mémoire (en particulier des événements récents) ainsi qu'une atteinte d'autres fonctions cognitives telles que les fonctions exécutives, le raisonnement, le jugement et le langage. La progression de la maladie qui peut être relativement lente s'accompagne d'une détérioration cognitive progressive du patient jusqu'à atteindre un stade très avancé au cours duquel les individus ne peuvent plus réaliser les tâches quotidiennes les plus simples, les conduisant à un état de dépendance totale. Cependant, la MA affecte en priorité les systèmes de mémoire et les systèmes cognitifs les plus élaborés alors que les systèmes de plus bas niveau, mettant en jeu des processus automatiques semblent plus résistants dans les premiers stades de la pathologie.

Après plus d'un siècle d'étude de cette pathologie, d'immenses progrès ont été réalisés en ce qui concerne sa physiopathologie. En effet, dès 1927, les plaques séniles (décrites par A. Alzheimer) ont été mises en évidence via une coloration au rouge Congo (Divry et Florkin, 1927). Ces plaques seront par la suite caractérisées comme étant une agrégation extracellulaire d'amyloïdes (Glennner et Wong, 1984) dérivant du clivage de la protéine précurseur des amyloïdes (APP) (Kang et al., 1987). D'autres études démontreront que ces plaques ne sont pas uniformes, pouvant être denses ou diffuses et associées à des dystrophies de neurites (Dickson et Vickers, 2001). Par ailleurs, d'autres études se sont intéressées à un autre type d'anomalie histologique rencontrée dans la MA : les dégénérescences neurofibrillaires (DNF), qui ont été décrites comme des lésions intraneuronales (Kidd, 1963), correspondant à des paires de filaments en hélices, constituées de protéines tau hyperphosphorylées (Brion et al., 1985). Malgré ces découvertes, les mécanismes neurobiologiques sous-tendant la MA restent mal compris, ce qui constitue un frein considérable à la possibilité de poser un diagnostic fiable et précoce et de développer des thérapies efficaces.

En effet, établir un diagnostic fiable et précoce de cette pathologie, à l'aide de biomarqueurs spécifiques est un enjeu prépondérant permettant de prévenir ou ralentir l'évolution vers un stade avancé et irréversible de la maladie. Les progrès récents en neuroimagerie ont permis de montrer une diminution de la densité corticale chez des patients atteints de la MA (Frisoni et al., 2010 ; Putcha et al., 2010), ainsi qu'une altération des réseaux neuronaux notamment entre le lobe temporal médian et les aires corticales, chez des patients susceptibles de développer la pathologie (Sperling et al., 2010). Cependant, les premiers symptômes sont souvent ignorés ce qui retarde le diagnostic. Ainsi, la phase symptomatique de la MA est précédée d'une longue phase de latence appelée « *phase de déficits cognitifs légers* » (plus connue sous l'appellation anglophone « MCI pour « Mild Cognitive Impairment »), de progression lente et insidieuse. Cette phase correspond à un stade clinique dans lequel les sujets sont « partiellement symptomatiques » mais ne manifestent pas l'ensemble des symptômes du syndrome démentiel (Peterson et al., 1999). Les patients MCI présentent des déficits cognitifs en l'absence de perturbations dans les tâches quotidiennes (Gauthier et al., 2006). De plus, les individus présentant un MCI avec des déficits de mémoire (« amnestic MCI ») seraient davantage susceptibles de développer la MA en comparaison avec leurs homologues non amnésiques (Ravaglia et al., 2006 ; Sarazin et al., 2007). Par conséquent, une attention toute particulière est portée aux personnes souffrant de

troubles mnésiques dans la population vieillissante afin de détecter au plus tôt les personnes susceptibles de développer la MA.

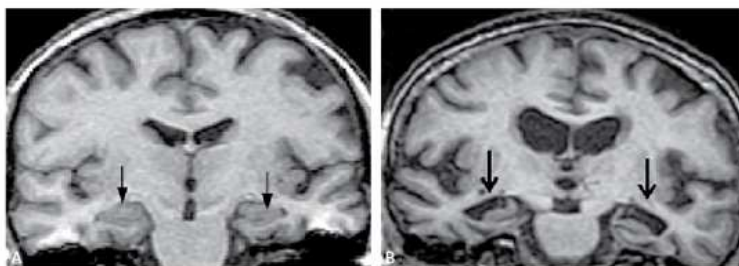
## 2. Histopathologie de la MA

D'un point de vue neuropathologique, la MA se caractérise par une association de lésions macroscopiques (atrophie corticale) et microscopiques (plaques séniles, dégénérescence neurofibrillaire) déjà décrites par A. Alzheimer en 1907.

### A. Les lésions macroscopiques

#### a. Les atteintes régionales

L'atrophie cérébrale est l'un des effets macroscopiques majeurs que l'on observe chez les patients souffrant de MA. Sur une période de 10 ans, cette atrophie induit une perte de 8 à 10% du poids du cerveau, alors que chez un individu sain, cette perte est en



**Fig. 1 : IRM montrant une réduction de l'hippocampe (flèches) et une dilatation des ventricules et des sillons corticaux chez un patient atteint de MA (à droite) en comparaison avec un patient sain (à gauche)**

moyenne de 2%. D'un point de vue anatomique, cette atrophie se caractérise par une importante diminution de la densité tissulaire de la substance grise

au niveau des régions temporales, pariétales et préfrontales du néocortex ainsi que dans l'hippocampe (HPC),

l'amygdale et l'insula (Frisoni et al., 2002 ; Scahill et al., 2002). Cette atrophie tissulaire touche également la substance blanche du néocortex (Bartzokis et al., 2003) et de l'HPC (Laakso et al., 1998 ; Callen et al., 2001), entraînant une dilatation des ventricules cérébraux et des sillons corticaux (Fig. 1), ainsi qu'une perte neuronale affectant particulièrement le système cholinergique (Gomez-Isla et al., 1997 ; Uyling et de Brabander, 2002 ; Jack et al., 2010 ; Sabuncu et al., 2011). Une atteinte tissulaire est également observée dans les cortex limbiques (parahippocampique, rétrospécial, enthorinal et périrhinal), ainsi que dans des régions fortement dépourvues de plaques séniles telles que la région septale, le thalamus, les corps mammillaires (Juottonen et al., 1998 ; Callen et al., 2001) et le cervelet (Sjöbeck et al., 2001)

L'atrophie cérébrale atteint de manière très précoce la région temporale médiane, et en particulier l'HPC, structure-clé du système limbique, impliqué notamment

(mais non exclusivement) dans la mémoire des représentations spatiales. Chez les sujets à risque, et notamment chez les sujets ayant des prédispositions génétiques à développer la maladie, la rapidité de l'évolution de l'atrophie corticale, notamment au niveau hippocampique est un indice prédictif d'évolution effective de la maladie.

### ***b. Les altérations neurochimiques***

En relation avec les atteintes régionales du cerveau, il apparaît que certaines populations cellulaires sont plus vulnérables que d'autres dans la MA, qui affecte de manière différente la quantité et la qualité de certains neurotransmetteurs.

Le système cholinergique semble être le plus précocement affecté au cours du développement de la MA, entraînant notamment une diminution de la quantité d'acétylcholine et de ses métabolites (Nordberg et al., 1999). Compte tenu du rôle de ce neurotransmetteur dans la mémoire, l'atteinte précoce du système cholinergique serait responsable de nombreux troubles mnésiques dans la MA (pour revue : Contestabile, 2011).

Le système sérotoninergique est également affecté et serait plutôt associé aux cas de dépression et de psychose observés chez des patients souffrant de la MA (Frisoni et al., 1999). Le système dopaminergique semble, quant à lui, relativement préservé.

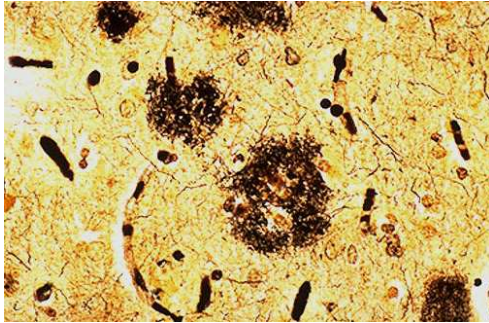
De manière générale, la MA affecte de façon importante les neurotransmetteurs dits excitateurs, jouant un rôle important dans le développement clinique et physiopathologique de la maladie. En effet, il a été démontré que dans les phases précoces de la maladie, une augmentation du taux de glutamate circulant entraînait des pertes cellulaires dues à la toxicité de doses massives de ce métabolite. De plus, les interactions avec le peptide amyloïde- $\beta$  ( $A\beta$ ) diminueraient la résistance des cellules à ce type d'agression et potentialiseraient leurs effets cytotoxiques (Pomara et al., 1992). A l'inverse, dans les stades avancés de la maladie, il a été observé une diminution importante de l'activité glutamatergique au niveau des cortex frontal et temporal qui serait corrélée avec la progression des symptômes cognitifs (pour revue : Lau et Tymianski, 2010).

Cependant, les maladies neurodégénératives de type Alzheimer affectent également l'activité du neurotransmetteur inhibiteur l'acide gamma aminobutyrique (GABA). En effet, une atteinte importante des fibres GABAergiques dans le cortex et l'HPC a été mise en évidence (Hardy et al., 1987 ; Simpson et al., 1988) ainsi qu'une augmentation du GABA circulant dans le liquide céphalo-rachidien de patients atteints de MA (Samakashvili et al., 2011 ; Jo et al., 2014).

## B. Les lésions microscopiques

### a. Les plaques séniles

Elles sont historiquement l'un des marqueurs histopathologiques majeurs de la MA (Fig. 2). Ces lésions extracellulaires sont caractérisées par une accumulation anormale



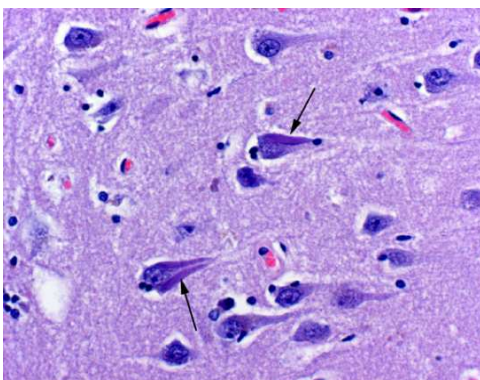
**Fig. 2 : Plaques séniles mises en évidence par un marquage à l'argent**

d'un fragment peptidique insoluble et toxique de 4kDa : le peptide A $\beta$  composés de 39 à 42 acides aminés (A $\beta_{(1-42)}$ ), issu du clivage protéolytique séquentiel de son précurseur, la protéine APP. Sa plus grande propension à devenir fibrillaire et à être insoluble font de l'A $\beta_{(1-42)}$  le peptide le plus abondant au sein des plaques séniles (Serrano-Pozo et al., 2011). Ces plaques existent sous deux formes différentes : les plaques denses et les plaques diffuses.

Leur différenciation s'effectue avec un marquage à la thioflavine-S marquant les feuillets  $\beta$  plissés des peptides A $\beta$  au sein des plaques denses. En plus d'être composées d'A $\beta$ , les plaques séniles denses présentent des prolongements neuronaux chargés de protéine tau, ainsi que d'autres composés tels que l'apolipoprotéine E (ApoE), des cellules microgliales et astrocytaires, démontrant une activité inflammatoire importante. Ces plaques sont majoritairement retrouvées chez les patients atteints de MA. A l'inverse, les plaques diffuses, exclusivement constituées de dépôts d'A $\beta$ , sont retrouvées chez des personnes âgées présentant des performances cognitives intactes (Serrano-Pozo et al., 2011). Nous reviendrons sur ce point ultérieurement. Les plaques séniles envahissent progressivement le cerveau à partir du cortex limbique et des cortex associatifs (Glenner et Wong, 1984 ; Masters et al., 1985).

### b. Les dégénérescences neurofibrillaires (DNF)

Elles font parties des lésions histologiques caractéristiques de la MA (Fig. 3).



**Fig. 3 : Les DNF (flèches) mises en évidence par une coloration hématoxyline-éosine**

Elles sont constituées d'une accumulation de paires de filaments disposés en hélice (paired helical filaments) (Lee et al., 2001 ; Mandelkow et al., 2003) et d'une agrégation de la protéine tau qui a subi des modifications post-traductionnelles anormales, incluant des hyperphosphorylations et hyperacétylations. A l'inverse

des plaques séniles qui sont extracellulaires, les DNF sont présentes dans le corps cellulaire des neurones, mais également au niveau dendritique et axonal, ainsi que dans la couronne des plaques séniles denses. La protéine tau appartient à la famille des protéines associées aux microtubules. Lorsqu'elle est normalement phosphorylée, elle intervient dans la polymérisation-dépolymérisation des microtubules du cytosquelette neuronal et dans le transport axonal. En conditions pathologiques, la protéine tau hyperphosphorylée perd sa solubilité, perturbe le transport axonal et par conséquent le fonctionnement des neurones, induisant leur destruction (Zékri, 1999). Les DNF s'installent progressivement dans les différentes régions cérébrales d'une manière séquentielle et hiérarchisée. En effet, ces lésions sont présentes dans un premier temps au niveau de la région hippocampique (aires trans-entorhinale, entorhinale puis HPC). A ce stade, le processus dégénératif est encore pré-symptomatique et peut le demeurer plusieurs dizaines d'années. La phase clinique, correspondant à l'apparition des symptômes, se déclare lorsque les régions corticales associatives (cortex temporal supérieur, cortex préfrontal et cortex pariétal) sont atteintes.

### *c. Les pertes neuronales*

Les atteintes cellulaires se traduisent *in fine* par la mort des neurones. Les neurones cholinergiques de la partie basale du cerveau antérieur (Noyaux de Meynert, Bande diagonale de Broca), qui projettent sur l'HPC et le néocortex, sont particulièrement sensibles et directement associés à la symptomatologie clinique de la maladie. Le phénomène d'apoptose a largement été étudié afin d'expliquer les pertes neuronales engendrées par la MA même si son importance dans les phases précoces est encore discutée. Cependant, il a été démontré, sur des cultures neuronales, que l'injection de peptide A $\beta$  induisait une mort cellulaire de type apoptotique (Pillot et al., 1999). Par ailleurs, la présence d'ADN en fragmentation a été détectée par une méthode TUNEL dans les tissus cérébraux de patients souffrant de MA. Les autres marqueurs traduisant un phénomène apoptotique restent rares (Anderson et al., 2000 ; Su et al., 2002 ; Colurso et al., 2003) et les problèmes techniques liés à la détection des processus apoptiques restent un frein à des avancées plus importantes.

### *d. Les pertes synaptiques*

Le neuropile est constitué par l'ensemble des connexions dendritiques, synaptiques et axonales des neurones. L'arborisation dendritique, qui représente à elle seule 95% de la surface synaptique réceptrice, est fortement touchée (diminution de la longueur des dendrites et pertes des synapses) au niveau de l'HPC et du néocortex dans la MA. Des études portant sur l'analyse densitométrique de protéines impliquées dans la structure et la fonction

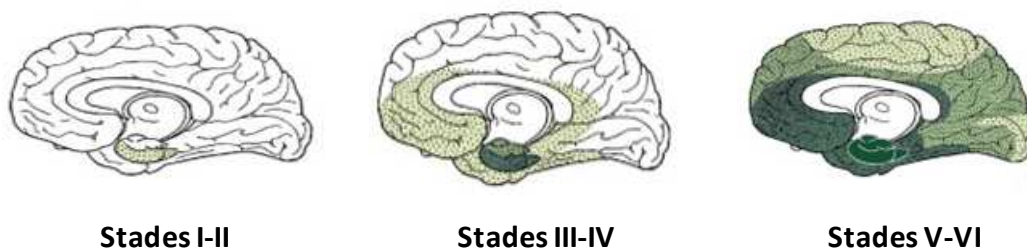
synaptique comme la synaptophysine (protéine des vésicules synaptiques) ont démontré sa forte diminution au niveau de l'HPC et du cortex cérébral (Honer, 2003). Par ailleurs, il a été suggéré que des anomalies de conformation de ces protéines synaptiques engendreraient leur propre agrégation et leur confèreraient des propriétés neurotoxiques (Sisodia et Price, 1995 ; Selkoe, 2002).

Dans ce contexte, l'altération synaptique du système cholinergique est très importante et semble antérieure à l'atteinte des synapses glutamatergiques et GABAergiques (Bell et al., 2007).

### C. Interactions entre les plaques séniles et les DNF

Les plaques séniles et les DNF envahissent progressivement l'ensemble du cerveau au cours de la MA, mais le rapport chronologique entre l'apparition de ces deux caractéristiques histopathologiques est encore controversé.

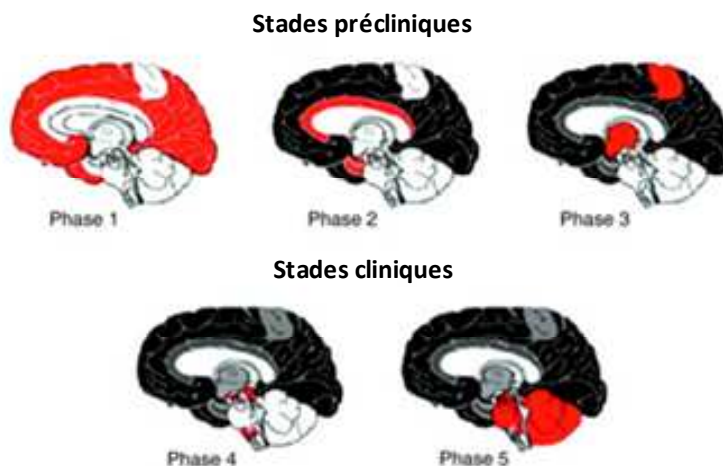
Des études post-mortem ont démontré que les premières lésions à apparaître étaient des DNF au niveau de la région hippocampique. Par la suite, des dépôts diffus de peptide A $\beta$  seraient observés au niveau de néocortex conduisant, de part leur agrégation, à une réaction inflammatoire (microgliale et astrocytaire) et à la formation de plaques neuritiques constituées d'un cœur amyloïde et d'un contour de DNF. Les travaux menés par Braak et Braak (1997) ont conduit à élaborer une hypothèse concernant les différentes étapes de dépôts des amyloïdes et des DNF dans les différentes régions cérébrales. Ils ont ainsi décrit 3 stades dans la chronologie des dépôts amyloïdes (A, B et C) et 6 stades correspondant à l'envahissement du cerveau par les DNF (Braak et Braak, 1991 ; Braak et al., 1994 ; Braak et Braak, 1997) (Fig. 4).



**Fig. 4 : Apparition des DNF au cours de l'évolution de la MA (Stades de Braak) (D'après Goedert et al., 2010).** Aux stades I et II, les DNF sont confinées au niveau du cortex entorhinal. Les stades III et IV sont caractérisés par une atteinte massive des régions trans-entorhinales et entorhinales alors que l'HPC et les noyaux sous-corticaux sont atteints de manière modérée. Les stades V et VI se caractérisent par l'atteinte des régions corticales et une augmentation des DNF dans les régions préalablement affectées au cours des stades I à IV.



Cependant, d'autres études ont démontré que la constitution des dépôts amyloïdes suivait une séquence différente au cours de laquelle les régions du lobe temporal médian sont hiérarchiquement impliquées (Thal et al., 2000). Une hypothèse de dépôts des amyloïdes répartis en 5 stades différents a été proposée (Fig. 5) (Thal et al., 2002). Dans ce modèle, lors de la phase 1, les dépôts amyloïdes seraient exclusivement corticaux puis, lors de la phase 2, on observerait l'apparition de dépôts principaux dans les régions hippocampiques (cortex entorhinal, CA1), le cortex insulaire, ainsi que de quelques dépôts dans l'amygdale. La phase 3 verrait l'atteinte des noyaux diencephaliques, du striatum et des noyaux cholinergiques du tronc cérébral ; lors des phases 4 et 5 correspondant aux stades cliniques de la maladie, tous les noyaux du tronc cérébral ainsi que le cervelet seraient envahis. Ce développement de la diffusion des dépôts amyloïdes se ferait donc de manière antérograde (des régions déjà atteintes vers les aires cérébrales recevant des afférences de ces régions), ce qui suggère que de nombreuses aires cérébrales seraient touchées par des dépôts amyloïdes avant de manifester les premiers symptômes cliniques (phases 1 à 3) de la MA.



**Fig. 5 : Evolution du dépôt des amyloïdes au cours de la progression de la MA (Stades de Thal).** Les plaques amyloïdes se déposent au cours des stades précliniques, au niveau cortical, puis dans l'HPC, le striatum et les noyaux cholinergiques avant d'atteindre dans les phases tardives (stades cliniques) le cervelet et le tronc cérébral.

Cependant, il existe une réelle difficulté à associer ces deux lésions dans la MA. En effet, alors que certains individus déments présentent un stade IV de DNF et seulement un stade A pour les plaques séniles, d'autres patients sans démences présentent un stade II de DNF et une charge amyloïde au stade C (Braak et Braak, 1991).

L'utilisation de modèles animaux de la MA a permis d'élucider certaines questions mais également d'en poser de nouvelles en ce qui concerne la temporalité

d'apparition de ces deux lésions. En effet, des souris transgéniques sur-exprimant une protéine APP humaine mutée (retrouvée dans les formes familiales de la MA) présentent des plaques séniles extracellulaires sans toutefois développer de pathologie associée à la protéine tau. A l'inverse, la surexpression de la protéine tau humaine mutée chez des souris entraîne l'apparition de DNF mais pas de plaques séniles. Cependant, l'observation de DNF et de plaques séniles au sein d'un même animal a été démontrée chez une lignée de souris présentant une double surexpression des gènes APP et tau (pour revue : Langui et al., 2007), mais ces lésions semblent apparaître de manière indépendante. Ces premiers travaux semblent donc démontrer que les deux lésions sont totalement indépendantes.

En revanche, d'autres travaux ont démontré que l'apparition de DNF chez la souris sur-exprimant la protéine tau mutée était potentialisée par l'augmentation de la concentration en peptide  $A\beta_{(1-42)}$ , ou par la surexpression du gène APP humain (Gotz et al., 2001 ; Lewis et al., 2001). A l'inverse, une diminution de l'expression de la protéine tau mutée chez des souris transgéniques présentant une surexpression de l'APP humain atténuerait les déficits cognitifs, ce qui suggère que les DNF et les plaques séniles auraient toutes deux une action délétère dans la MA et que cette pathologie résulterait d'une synergie entre ces deux processus (Roberson et al., 2007, Musiek et Holtzman, 2015).

### **D. Autres marqueurs histopathologiques de la MA**

En plus des lésions microscopiques citées précédemment, d'autres marqueurs ont été observés au cours d'autopsies de cerveaux de patients atteints de MA. Cependant, bien que ces lésions semblent importantes dans les aspects physiopathologiques de la maladie, leurs potentiels en tant que biomarqueurs caractéristiques de la MA apparaissent moins évidents.

#### ***a. L'angiopathie amyloïde cérébrale***

Une pathologie vasculaire cérébrale est observée chez 60 à 90% des patients atteints de MA (Kalaria, 2000) et plus précisément une angiopathie amyloïde cérébrale dans 80% des cas (Castellani et al., 2004). Cependant, ce type de lésion n'est pas spécifique de la MA puisqu'elle est retrouvée chez des personnes âgées ne souffrant pas de démence (Revesz et al., 2002). Les angiopathies amyloïdes cérébrales résultent d'une accumulation de peptides  $A\beta$  dans la paroi des vaisseaux sanguins du cortex cérébral, et plus particulièrement au niveau des petits vaisseaux et des artérioles de la substance grise. La sévérité de ces lésions est associée à une augmentation du risque d'hémorragie cérébrale, d'ischémie et d'hypoperfusion cérébrale (Perl, 2010 ; Thal et al., 2008) pouvant contribuer au déclin cognitif (Cadavid et al.,

2000). Cependant, les corrélations directes entre la sévérité de l'angiopathie amyloïde cérébrale et le déclin des fonctions cognitives liés à la MA n'a pas encore été clairement établie (Attems and Jellinger, 2014).

### ***b. L'inflammation cérébrale***

Le rôle joué par les processus neuroinflammatoires dans la MA a depuis longtemps été proposé (McGeer et al., 1996 ; Stewart et al., 1997 ; Rogers et al., 1996). En effet, des analyses histologiques ont démontré que les plaques séniles étaient entourées par des cellules gliales et astrocytaires (Cf : Partie 1.I.2.B.a). Des niveaux élevés de molécules pro-inflammatoires ont également été observés dans le cerveau et le sérum de patients atteints de MA (Zhu et al., 1999). Ces observations ont conduit à l'hypothèse que l'inflammation cérébrale serait une conséquence de la MA et que celle-ci accentuerait les effets exercés par les plaques amyloïdes (Pimplikar, 2014). Cependant, des études ont posé la question de savoir si l'inflammation cérébrale pouvait être une cause de la MA. De manière intéressante, la stimulation des processus inflammatoires systémiques induit un dépôt de peptides amyloïdes chez des souris sauvages, et potentialise la pathologie amyloïde chez des souris triple transgéniques 3xTg présentant une mutation *Swedish* du gène APP, une mutation du gène PSEN1 codant pour la préséniline 1 et une mutation du gène codant pour la protéine tau (Krstic et al., 2012). En accord avec ces observations, une étude a montré que la microglie isolée à partir de souris modèles de la MA (APP/PS1 et APP23) présentait une activité phagocytaire réduite par rapport à leurs homologues sauvages, suggérant que la microglie entourant les plaques séniles serait inactive, et conduirait à l'inflammation cérébrale dans la MA (Krabbe et al., 2013). De plus, des études menées chez l'Homme, ont montré que les patients souffrant de MA et ayant des marqueurs pro-inflammatoires dans leur sérum, présentent un déclin cognitif plus rapide que leurs homologues dépourvus de marqueurs pro-inflammatoires (Holmes et al., 2009 ; Perry et al., 2007). La dégénérescence neuronale induit une activation microgliale et conduit à l'inflammation cérébrale. De nombreuses preuves indiquent que cette inflammation peut exacerber la pathologie amyloïde, ce qui suggère que les molécules pro-inflammatoires présentes dans le sérum des patients pourraient potentiellement être considérées comme un marqueur prédictif de la MA (Britschgi et Wyss-Coray, 2009 ; Heppner et al., 2015).

### ***c. Les corps de Lewy***

De manière moins fréquente, dans 50 à 60% des cas de MA, on observe après autopsie la présence de corps de Lewy, résultant d'une agrégation anormale de la protéine  $\alpha$ -

synucléine, en plus de plaques séniles et de DNF (Hamilton, 2000 ; Marsh and Blurton-Jones, 2012). De manière intéressante, il apparaît que les patients atteints de MA avec présence de corps de Lewy présentent un déclin cognitif plus rapide et plus sévère, ainsi qu'une espérance de vie réduite comparés à ceux ne présentant pas de corps de Lewy (Hansen et al., 1990 ; Kraybill et al., 2005). Des études ont également rapporté que des souris surexprimant les protéines humaines APP, tau et  $\alpha$ -synucléine présentaient des détériorations cognitives plus rapides et sévères que des souris sur-exprimant uniquement tau, APP, ou  $\alpha$ -synucléine ou surexprimant tau et APP. Ces observations suggèrent qu'il existe une potentialisation mutuelle de ces trois molécules sur la détérioration des fonctions mnésiques (Clinton et al., 2010).

### **3. Les symptômes associés à la pathologie**

Les manifestations phénotypiques des maladies neurodégénératives peuvent être classifiées en trois domaines symptomatiques : neurologique, cognitif et neuropsychiatrique (également appelés symptômes comportementaux et psychologiques de la démence) (Finkel et al., 1996). Les processus neurodégénératifs affectent dès le début de la MA les régions cérébrales fortement impliquées dans les processus cognitifs, de sorte que les troubles cognitifs représentent les signes les plus précoces de la pathologie.

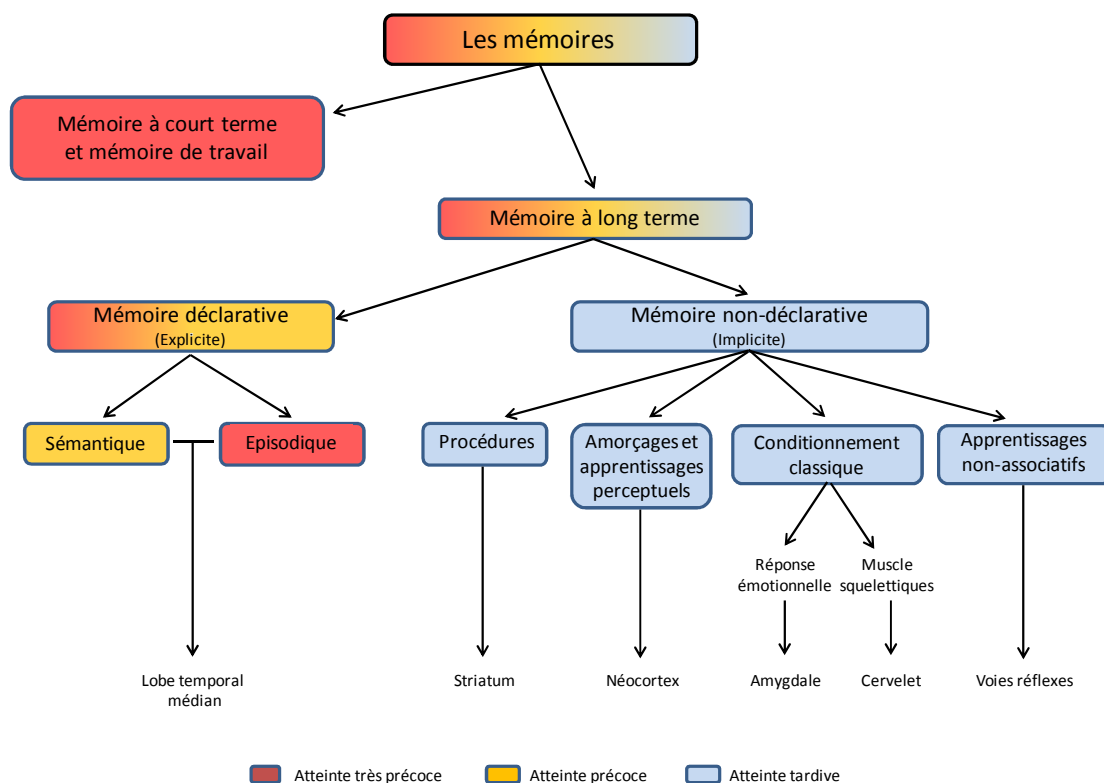
#### **A. Les troubles cognitifs**

La fonction cognitive la plus précocement altérée dans la MA est la mémoire, dont les perturbations relèvent directement de l'atteinte des structures temporales internes et frontales qui sont les premières zones cérébrales touchées par les processus neurodégénératifs. Sur le plan théorique, la mémoire est multisystémique et la MA n'affecte pas tous les processus et systèmes de mémoire de manière égale (Fig. 6).

##### ***a. La Mémoire de travail***

La mémoire de travail est la première forme de mémoire atteinte au cours de la MA (Morris et Baddeley, 1988 ; Welsh et al., 1991 ; Small et al., 2003). La mémoire de travail, qui est une mémoire à court terme, est utilisée pour le maintien temporaire d'une information et sa manipulation durant la réalisation d'une tâche. Le modèle de mémoire de travail conceptualisé par Baddeley (Baddeley et al., 1986), bien que largement admis par la communauté scientifique, est difficile à modéliser chez l'animal puisqu'il s'appuie principalement sur des modalités verbales. Ainsi, l'étude de la mémoire de travail chez l'animal repose sur le concept avancé par Olton (Olton, 1979), qui est basé sur le principe

selon lequel la mémoire de travail permet un maintien de l'information sous une forme active. La mémoire de travail est donc évaluée selon deux aspects : le souvenir d'un événement (épisode) et ultérieurement l'expression de ce souvenir selon une règle. Cet épisode particulier change d'un essai à l'autre, donc son maintien n'est utile que lors de l'essai en cours et pour des délais relativement courts. La mémoire de travail ne requiert donc pas le stockage et la conservation de l'information à long terme. Au contraire, le processus de consolidation mnésique s'avère inadapté à l'efficacité de cette forme de mémoire, et peut conduire aux phénomènes d'interférences. Les nombreux travaux réalisés chez l'animal ont permis de mettre en évidence que le cortex préfrontal ainsi que l'HPC sont particulièrement impliqués dans la mémoire de travail (Rajah et al., 1999 ; Mainy et al., 2006).



**Fig. 6 : Représentation schématique des différents systèmes de mémoire atteints au cours de l'évolution de la MA (Adaptée de Squire, 1992).** La mémoire à court terme et la mémoire de travail sont les formes de mémoire les plus précocement atteintes dans la MA au même titre que la mémoire épisodique. En revanche, les différentes formes de mémoire non-déclarative restent préservées dans les phases précoces de la maladie.

### *b. Les mémoires déclaratives*

La mémoire déclarative caractéristique de l'Homme est composée de la mémoire sémantique (mémoire des faits) et de la mémoire épisodique (autobiographique) (Squire et

Knowlton, 1996). Ces deux types de mémoire à long terme impliquant l'HPC sont atteints dans la MA selon une chronologie différente. En effet, les déficits de mémoire sémantique sont généralement plus tardifs que les troubles de mémoire épisodique, mais leur dégradation est sévère et caractéristique (Perry et Hodges, 2000 ; Tuokko et al., 2005 ; Storandt et al., 2006). A l'inverse, les déficits de mémoire épisodique apparaissent très précocement, avec une perturbation des événements récents en début de maladie, puis progressivement, le gradient d'amnésie rétrograde affecte les souvenirs plus anciens (Backman et al., 2005 ; Twamley et al., 2006 ; Bondi et al., 2008). Bien qu'étant caractéristique de l'Homme, la mémoire déclarative a pu être modélisée chez l'animal selon deux stratégies : la première vise à réduire la mémoire déclarative à ses propriétés élémentaires sans tenir compte de ses capacités de verbalisation ; la seconde consiste en l'étude de la fonction hippocampique qui est la structure majeure sous-tendant ce type de mémoire. En effet, afin d'évaluer la mémoire épisodique chez l'animal, plusieurs auteurs l'ont réduite à ses plus simples composantes en définissant une mémoire « épisodique-like » (Morris et al., 2001) basée sur la capacité des animaux à manipuler le « quoi » (quel événement à eu lieu), le « où » (à quel endroit) et le « quand » (à quel moment).

### *c. Les mémoires non-déclaratives*

Les mémoires non-déclaratives sont sous-tendues par diverses structures cérébrales et ont toutes la particularité de fonctionner selon un mode stimulus-réponse automatique et non flexible. Les apprentissages non-associatifs passent par des voies réflexes, alors que les apprentissages associatifs sont sous-tendus par l'amygdale en ce qui concerne les réponses émotionnelles (LeDoux, 1992 ; McGaugh et al., 1992) et par le cervelet en ce qui concerne les réponses squelettiques (Bracha, 2004). Les habitudes sont sous-tendues par le striatum et correspondent à un processus d'automatisation observé chez l'Homme (Compton et al., 1997) ainsi que chez l'animal (Chang et Gold, 2003) dans lequel un processus dépendant de l'HPC devient par la répétition, automatique et indépendant de cette structure. De manière générale, dans la MA, il apparaît que les mémoires procédurales sont préservées et ne sont atteintes que dans les phases très avancées de la maladie (Webster et al., 2014).

### *d. Autres déficits*

Cependant, la perte de mémoire n'est pas l'unique trouble cognitif observé au cours de la MA (Petersen, 2001). En effet, il a été observé, chez l'Homme dans les phases précoces de la maladie, des troubles du langage ainsi que des troubles des fonctions exécutives et de l'attention, mis en évidence par des tests standardisés permettant d'évaluer

ces paramètres (Perry et Hodges., 2000 ; Baddeley et al., 2001 ; Belleville et al., 2007). Les fonctions exécutives sont des processus cognitifs généraux permettant de mettre en place des stratégies d'organisation, d'effectuer des actions dirigées vers un but et d'avoir une capacité de jugement. La mémoire à long-terme ainsi que la mémoire de travail sont dépendantes des fonctions exécutives (Buckner, 2004). Leurs atteintes ont un impact majeur sur l'autonomie du sujet et sa capacité à effectuer des tâches de la vie quotidienne. Par ailleurs, les apraxies (perte de la capacité à utiliser les objets et à effectuer des gestes), qui sont également retrouvées chez les patients souffrant de MA, surviennent dans les phases tardives de la maladie, généralement après les troubles mnésiques et verbaux.

De manière générale, la progression des déficits cognitifs au cours de la MA est cohérente avec le développement spatio-temporel des atteintes cérébrales qui caractérise cette pathologie.

### **B. Les symptômes neuropsychiatriques**

En plus de développer des troubles cognitifs, les patients souffrant de MA peuvent présenter des symptômes de type neuropsychiatrique (Steinberg et al., 2008). Les principaux troubles sont l'anxiété, qui peut se présenter sous la forme d'agitation ou d'agressivité, l'apathie, la dépression et la psychose (Lyketsos et al., 2000, 2002). Ces troubles peuvent intervenir à tous les stades de la maladie mais, en général, ont une prévalence beaucoup plus importante lors des phases tardives, lorsque le sujet souffre de démences sévères. Différentes études ont démontré une relation de causalité structurale et fonctionnelle entre les phénomènes d'agitation et le développement de la MA suggérant que l'agitation retrouvée chez les patients souffrant de MA découlerait de déficits dans la régulation de leurs émotions et dans leur incapacité à résoudre des problèmes (Mattsson et al., 2014 ; Zhou et Seeley, 2014).

L'apathie, qui est un symptôme courant de la MA, est caractérisée par une diminution voire une absence de prise d'initiative et de motivation (Robert et al., 2009). Ce manque de motivation se caractérise par une absence de comportement dirigé vers un but (spontané ou en réaction à l'environnement), manifestée fréquemment par une perte d'intérêt. Plus généralement, les sujets atteints d'apathie présentent une absence de comportements spontanés et un émoussement émotionnel ainsi qu'une diminution de réactivité vis-à-vis de l'environnement (Rosenberg et al., 2015).

La psychose, généralement caractérisée par la présence de délires et/ou d'hallucination est largement rencontrée dans le cadre de la MA (Steinberg et al., 2008) mais

également dans diverses pathologies psychiatriques telles que la schizophrénie et les troubles bipolaires. L'apparition de ce type de troubles est généralement très tardive et sa mise en évidence présente généralement un pronostic défavorable.

Les troubles émotionnels tels que les syndromes de type dépressif sont largement rencontrés chez les patients atteints de MA. Ils se traduisent par une modification positive ou négative du seuil de réactivité des sujets aux stimulations extérieures.

Lors de l'évolution de la MA, les troubles neuropsychiatriques sont fréquemment rencontrés, notamment l'apathie et la dépression observées chez plus de 30% des sujets souffrant de MCI. Les psychoses (délires et hallucinations) sont également des signes relativement courants, qui peuvent être prédictifs d'un risque accru de déclin cognitif et fonctionnels. Il a également été rapporté que certains comportements dits « fondamentaux » pouvaient également être altérés dans le cadre de cette pathologie. On note par exemple, l'apparition de troubles du sommeil et de troubles nutritionnels (anorexie).

### C. Evolution de la symptomatologie

Afin de suivre l'évolution de la MA à travers le développement des symptômes, les professionnels de santé utilisent une échelle leur permettant d'avoir une vue d'ensemble sur l'état des fonctions cognitives des patients souffrant de certaines formes de démence dont la MA. Cette échelle d'évaluation de la détérioration globale baptisée en anglais « Global Deterioration Scale » (GDS) élaborée par B. Reisbergen 1982 comporte 7 stades différents allant de l'absence de troubles cognitifs à des déclin cognitifs très sévères (Tableau 1).

Global Deterioration Scale (Echelle de Reisberg) : 7 stades décrivant le déclin des capacités cognitives		
Stade 1	Pas de déficit cognitif	Aucun problème : pas de plainte de trouble cognitif, pas de problème au quotidien
Stade 2	Déclin cognitif très léger (Déficits de mémoire associés à l'âge)	Oubli des noms et emplacement des objets Pas de déficits mnésiques objectifs, pas de problèmes d'interaction sociale
Stade 3	Déclin cognitif léger (MCI)	Premiers troubles mnésiques observés Difficulté de résoudre des problèmes professionnels Difficultés de concentration et d'attention
Stade 4	Déclin cognitif modéré (Démence légère)	Difficultés dans les tâches complexes (planification) Reconnaissance des personnes et l'orientation sont généralement intactes
Stade 5	Déclin cognitif modérément sévère (Démence modérée)	Perte de mémoire concernant la vie personnelle du patient (adresse, téléphone, nom des proches) Désorientation temporelle (date, jour de la semaine, année...) Difficultés à choisir ses propres vêtements
Stade 6	Déclin cognitif sévère (Démence modérément sévère)	Perte totale d'autonomie : assistance pour manger, la toilette) Changement de personnalité (délires, hallucinations, comportements obsessionnels, anxiété)
Stade 7	Déclin cognitif très sévère (Démence sévère)	Toutes les capacités verbales sont perdues (vocabulaire réduit à quelques mots) Perte des compétences motrices basiques

**Tableau 1 : Description des 7 stades de l'échelle d'évaluation de la détérioration globale**



#### 4. Les facteurs de risques :

L'étiologie de la MA est multifactorielle et est probablement causée par des interactions complexes entre des facteurs génétiques, épigénétiques et environnementaux. Cependant, on distingue deux formes différentes de MA : une forme dite familiale (ou monogénique) correspondant à moins de 1% des cas (Campion et al., 1999), caractérisée par le déclenchement précoce de la maladie (inférieur à 60 ans), et une forme dite sporadique correspondant à la majorité des cas, caractérisée par l'apparition plus tardive de la maladie et dont le principal facteur de risque est l'âge. Cependant, il est important de noter que quelle que soit la forme de MA développée (familiale ou sporadique), les anomalies morphologiques cérébrales ainsi que les symptômes développés sont identiques.

##### A. Les formes familiales

Les formes familiales de la MA correspondent à des formes précoces pour lesquelles des mutations génétiques ont été caractérisées. Les travaux menés par Heston en 1981 ont montré pour la première fois un lien de causalité entre la MA et la transmission génétique (Heston et al., 1981). En effet, au sein de cette étude, il a été observé que les parents des individus affectés par la MA provenaient de familles dans lesquelles il y avait une plus grande incidence de syndrome de Down (ou trisomie 21). Ces premières informations ont suggéré un possible lien entre les formes familiales de la MA et la présence d'un gène anormal ou d'un défaut structural au niveau du chromosome 21. La prédiction de l'existence d'un « gène » de la MA sur le chromosome 21 a été confortée par la découverte des A $\beta$  issus du clivage de la protéine APP (Glenner et Wong, 1984). De nombreux travaux ont été entrepris afin d'isoler le gène codant pour la protéine APP, et il a été effectivement démontré que ce gène se situait au niveau du chromosome 21 (Goldbager et al., 1987 ; Kang et al., 1987 ; St George-Hyslop et al., 1987 ; Tanzi et al., 1987). Par la suite, de nombreuses mutations sur le gène APP ont été découvertes, conduisant toutes à des formes précoces de la MA (Levy et al., 1990 ; Van Broeckhoven et al., 1990 ; Frangione et al., 1990 ; Goate et al., 1991). Cependant, il apparaît que les mutations du gène APP ne concernent que 15% environ des formes monogéniques de la MA (Bertram et al., 2010).

Des études ont donc tenté d'identifier d'autres gènes cibles pouvant être responsables des formes précoces de la MA. Au cours de l'année 1995, deux gènes ont été identifiés : la préséniline 1 (PSEN1) située sur le chromosome 14, et la préséniline 2 (PSEN2) située sur le chromosome 1 (Levy-Lahad et al., 1995 ; Rogaev et al., 1995 ; Sherrington et al., 1995) qui représentent 20 à 60% des formes monogéniques. Les mutations de ces deux gènes

sont directement associées au métabolisme de la protéine APP, du fait de leur localisation au sein du complexe  $\gamma$ -sécrétase, conduisant à la production de peptides  $A\beta_{(1-42)}$  (Citron et al., 1997 ; Siman et al., 2000 ; Haass et al., 2012). Le gène PSEN 1 est responsable de plus d'une centaine de mutations pathogènes différentes (Duering et al., 2005) alors que le gène PSEN2 ne présente jusqu'à maintenant qu'une dizaine de mutations (Hardy, 1997). Les mutations PSEN1 sont dominantes, fréquentes (environ 80% de tous les cas familiaux connus) et conduisent à une forme très agressive et très précoce de la maladie, puisqu'elles touchent des personnes jeunes (entre 24 et 50 ans). Il s'agit de mutations ponctuelles dites « faux-sens », caractérisées par la substitution d'un acide aminé par un autre (Campion et al., 1995). Les mutations sur le gène PSEN2, quant à elles, sont rares et associées à une forme familiale relativement moins agressive. Par ailleurs, toutes ces mutations sont à pénétrance complète, ce qui signifie que les porteurs développent irrémédiablement la maladie autour de 60 ans en moyenne (pour revue : Tanzi et Bertram, 2005 ; Bertram et Tanzi, 2008).

### **B. Les formes sporadiques**

Les formes dites sporadiques représentent environ 99% des cas de MA dont l'âge est le principal facteur de risque, avec une incidence qui augmente de manière exponentielle avec l'âge, et double par tranche d'âge de 5 ans au-delà de 65 ans (pour revue : Reitz et Mayeux, 2014). Cependant, d'autres facteurs de risque semblent également responsables des formes tardives de la MA. En effet, il a été démontré que l'allèle  $\epsilon_4$  de l'ApoE présente au niveau du chromosome 19 était surreprésenté chez les malades et constitue par conséquent un facteur de risque génétique important concernant les formes tardives de la MA (Corder et al., 1993 ; Strittmatter et al., 1993 ; Farrer et al., 1997). Par ailleurs, les facteurs vasculaires, incluant l'hypertension artérielle (Kivipelto et al., 2001 ; Launer et al., 2000 ; Whitmer et al., 2005), les accidents vasculaires cérébraux (Wen et al., 2007) et le diabète et notamment le diabète de type 2 (Luchsinger et al., 2001 ; Farris et al., 2003) sont autant de facteurs de risque environnementaux pouvant conduire au déclenchement de la MA. En revanche, il apparaît qu'un haut niveau d'étude (Fratiglioni et al., 2004 ; Carlson et al., 2008), une consommation modérée d'alcool (vin ou bière) (Commenges et al., 2000), une consommation d'acides gras polyinsaturés (Yehuda et al., 2002) ainsi qu'une activité physique régulière (Dishman et al., 2006) pourraient avoir un rôle protecteur vis-à-vis du risque de développer une démence.

## II. Les acteurs moléculaires de la MA

Comme nous venons de le voir, la MA est une pathologie multifactorielle, présentant divers facteurs de risque génétiques ou environnementaux. En effet, de nombreux acteurs moléculaires ont été identifiés, tels que les présénilines, l'ApoE, tau, les peptides amyloïdes, et chacun d'entre eux semble jouer un rôle dans le développement de la pathologie. Cependant, dans cette partie, nous nous intéresserons uniquement aux différents peptides amyloïdes et à leurs rôles dans la MA.

### 1. La cascade amyloïde et le peptide A $\beta$

La cascade amyloïde, caractérisée par le dépôt de peptides A $\beta$  au niveau cérébral, est un événement majeur intervenant au cours de la MA. Elle est basée sur la protéolyse de l'APP conduisant à la formation de dépôts amyloïdes, dont le peptide A $\beta$  est un constituant majeur.

#### A. L'APP

Cette protéine transmembranaire de type I a une expression ubiquitaire, avec une très forte expression dans le cerveau. D'un point de vue physiologique, elle est impliquée dans un très grand nombre de processus. En effet, elle intervient au niveau de l'adhésion cellulaire (Gralle et Ferreira, 2007) ainsi que dans les phénomènes d'agrégaions plaquettaires par le biais de son domaine inhibiteur de sérine protéase de type KPI (Kunitz Protease Inhibitor domain) (pour revue : Canobbio et al., 2015). De plus, cette protéine participe également au maintien du cytosquelette (Refolo et al., 1991), à la différenciation cellulaire (Sugaya, 2008) et à la mort neuronale (Yoshikawa, 2000).

L'APP existe majoritairement sous trois isoformes différentes dans le cerveau qui sont codées par un seul gène. Les trois isoformes résultent de l'épissage alternatif de l'ARN messager (Fig. 7A) et sont composées de 770, 751 et 695 acides aminés (Fig. 7B). L'isoforme APP 695 possède une expression exclusivement neuronale et ne présente plus de domaine KPI alors que les isoformes APP 770 et APP 751 sont minoritaires au niveau du système nerveux central mais sont surexprimés au cours du vieillissement normal et pathologique (MA) ainsi que dans le syndrome de Down.

Par ailleurs, il existe également deux autres membres de la famille des APP chez les mammifères : les protéines APLP1 et APLP2 (amyloïde precursor-like protein) (Thinakaran et Koo, 2008). Leur métabolisme est très ressemblant à celui des protéines APP à la seule différence qu'il ne conduit pas à la synthèse de peptide A $\beta$  mais d'un peptide p3 qui

ne s'agrège pas et qui n'est pas neurotoxique (De Strooper et Annaert, 2000 ; Minogue et al., 2009).

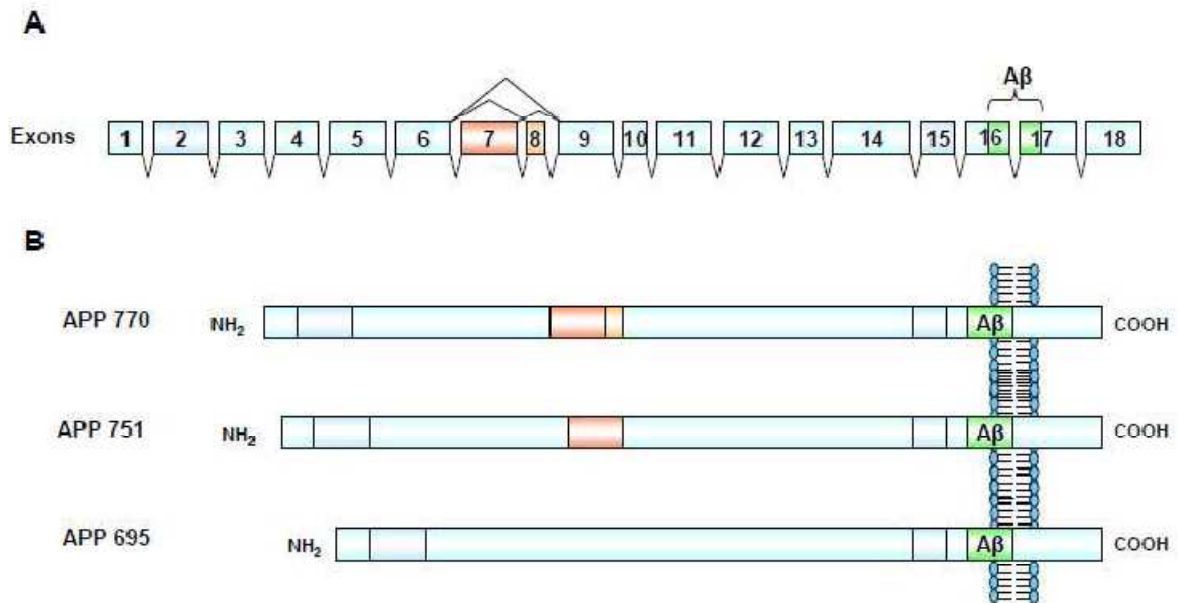


Fig. 7 : Structure de l'ARN messager de la protéine APP (A) et de ses trois principales isoformes (B)

## B. La protéolyse de l'APP

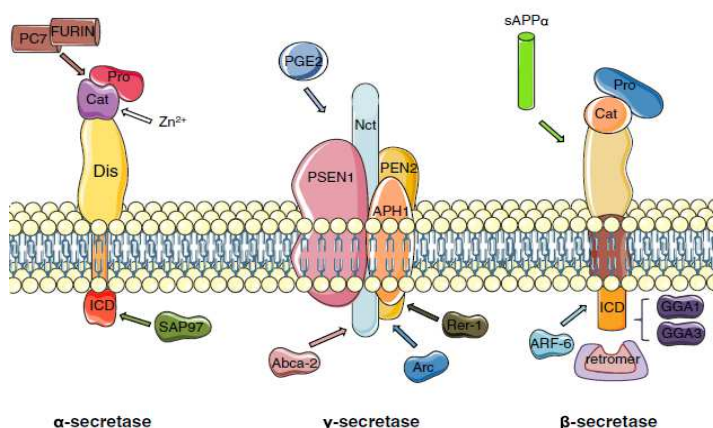


Fig. 8 : Structures des différents types de sécrétases impliquées dans le métabolisme de l'APP (D'après Claeysen et al., 2012)

L'APP est métabolisée selon deux voies distinctes : une voie dite non amyloïdogénique qui correspond à la dégradation physiologique de l'APP, et une voie dite amyloïdogénique entraînant la production de peptides Aβ et conduisant à la MA. Ces deux voies métaboliques font intervenir 3 enzymes transmembranaires différentes appartenant à la famille

des sécrétases, α, β et γ (Fig. 8) (pour revue : Querfurth et LaFerla, 2010). De nombreuses protéases transmembranaires appartenant à la famille des métalloprotéases ont été proposées pour agir comme des α-sécrétases dont les plus couramment admises sont les ADAM 10, 9 et

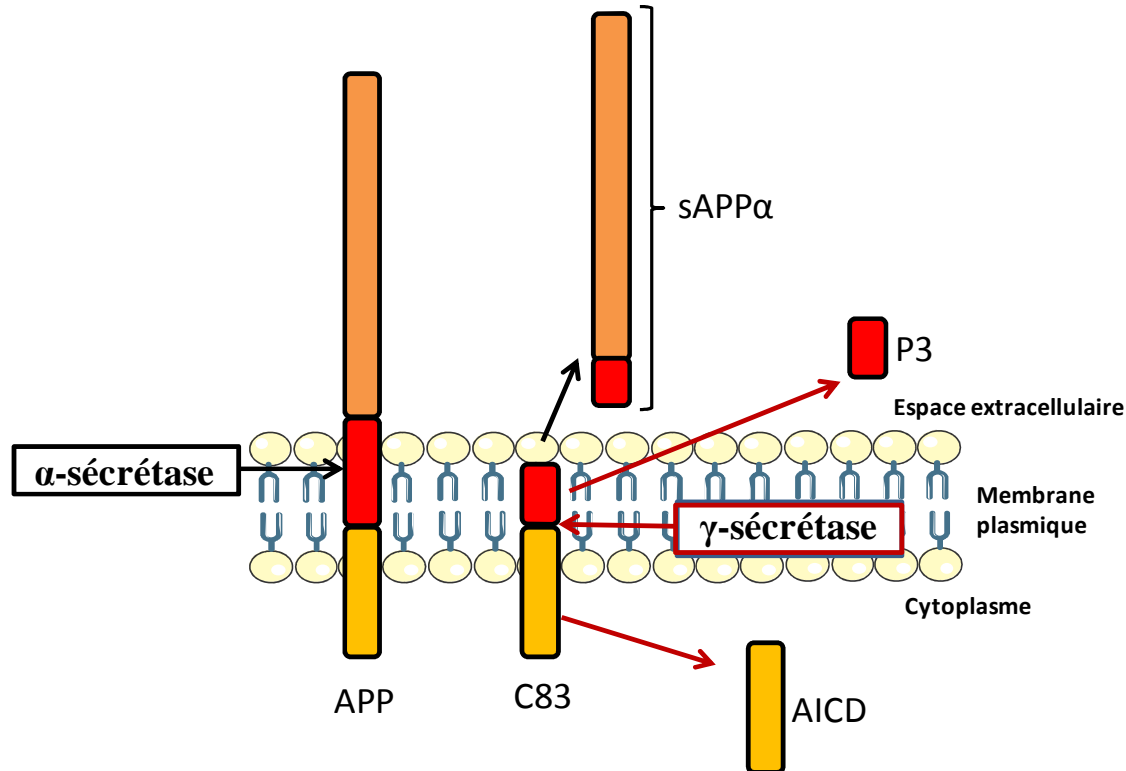
17 (A Disintegrin And Metalloprotéase) (Kuhn et al., 2010). Cependant, ADAM 10 apparaît comme le meilleur candidat, de part sa forte expression au niveau cérébral et sa présence au niveau de la surface cellulaire (Parvathy et al., 1999). L'enzyme BACE1 (B site APP Cleaving Enzyme 1), identifiée comme la  $\beta$ -sécrétase, est très présente au niveau du cerveau (Vassar et al., 1999 ; Yan et al., 1999) et interagit spécifiquement avec la protéine APP. Cette protéine est composée d'un domaine catalytique, d'un pro-domaine, d'un domaine disintégrine et d'un domaine intracellulaire. Le complexe  $\gamma$ -sécrétase est un complexe enzymatique composé de 4 sous-unités : la Nicastrine (Nct), d'un activateur de préséniline, et des présénilines 1 et 2 (PS1 et PS2) (Bergmans et De strooper, 2010). Le site actif de cette enzyme est représenté par les présénilines, alors que la nicastrine est responsable de l'ancrage du substrat (Wolfe et al., 1999 ; Shah et al., 2005).

#### *a. La voie non-amyloïdogénique*

Cette voie de dégradation de la protéine APP (Fig. 9) fait intervenir dans un premier temps l' $\alpha$ -sécrétase. Cette enzyme clive les différentes isoformes de l'APP au sein de la séquence correspondant au peptide  $A\beta$ , ce qui empêche par conséquent sa formation. En effet, le clivage de l'APP par l' $\alpha$ -sécrétase entraîne la formation i) d'un fragment d'APP soluble (sAPP $\alpha$ ) au niveau N-terminal qui favorise la prolifération cellulaire et la neurogenèse chez l'adulte (Caille et al., 2004 ; Zhao et al., 2008), et qui serait également capable de contrôler le flux calcique (Thomas et Huganir, 2004) et ii) d'un fragment C-terminal appelé C83 ou  $\alpha$ -CTF qui reste ancré à la membrane plasmique. Suite à ce premier clivage, la protéine APP, et plus particulièrement le fragment C83, devient le substrat de la  $\gamma$ -sécrétase entraînant la libération de deux peptides : le domaine intracellulaire de l'APP (AICD) et le peptide p3 au niveau extracellulaire. Le rôle des AICD n'est pas clairement établi, notamment du fait de leur petite taille et de leur dégradation rapide, qui les rend difficile à observer. Le peptide p3 est également très peu étudié. Il a été décrit dans un premier temps comme le principal composant des dépôts pré-amyloïdes (Lalowski et al., 1996), et est uniquement présent au niveau cérébral des patients MA (Higgins et al., 1996). Cependant, il a été démontré un rôle pro-apoptotique du p3 sur des cultures de neuroblastomes, où sa surexpression induit l'activation de caspases (3 et 8) et de la kinase JNK (c-Jun N-terminal kinase) molécules impliquées dans les processus apoptotiques (Wei et al., 2002).

Le p3 correspondant à la séquence 17-42 du peptide  $A\beta_{(1-42)}$ . Des auteurs ont tronqué les 16 premiers acides aminés du peptide  $A\beta_{(1-42)}$  et ont comparé son agrégation par rapport au peptide  $A\beta_{(1-42)}$  non modifié. Cette étude a démontré que les oligomères de p3 sont

instables et restent à l'état de monomères exceptée une petite minorité qui parvient à un état fibrillaire (Dulin et al., 2008). La voie non-amyloïdogène intervient de manière prépondérante au niveau de la surface cellulaire où l' $\alpha$ -sécrétase est ancrée (Parvathy et al., 1999 ; Wang et al., 2013).

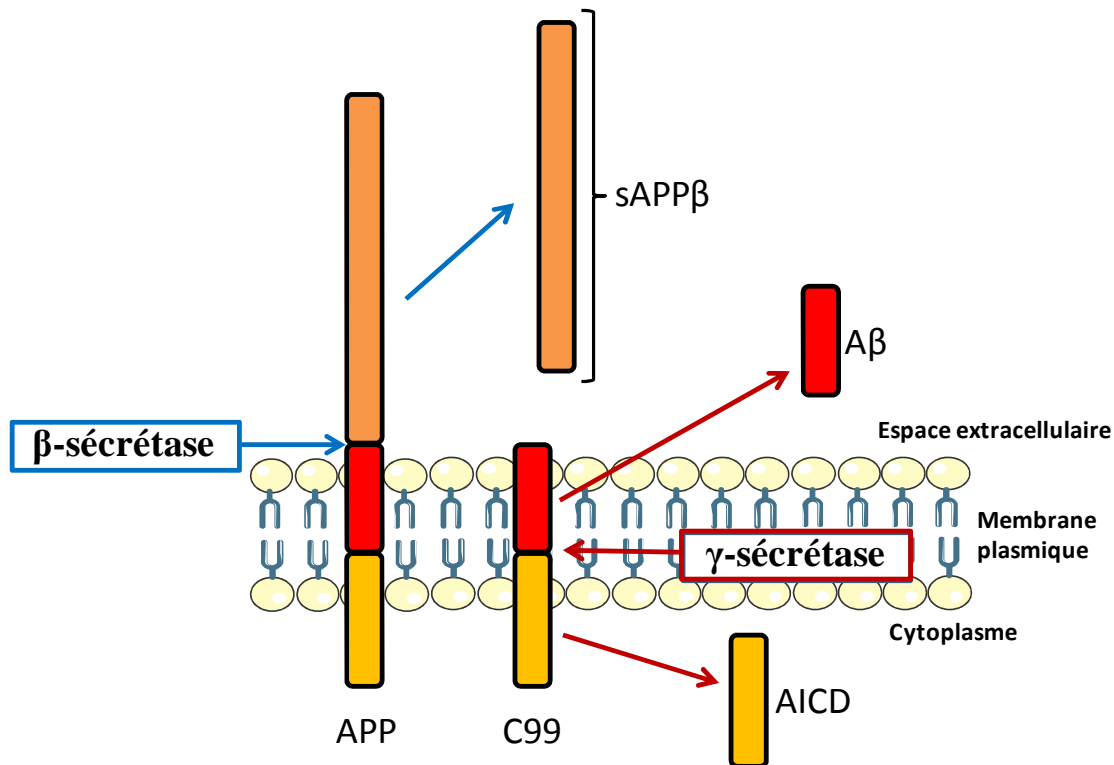


**Fig.9 : Représentation schématique de la protéolyse de l'APP - la voie non-amyloïdogène.** La protéine APP est dans un premier temps clivée par l' $\alpha$ -sécrétase puis par la  $\gamma$ -sécrétase, libérant ainsi un fragment p3 dans l'espace extracellulaire et le domaine intracellulaire de l'APP. C83 : fragment résultant du clivage de la protéine APP par l' $\alpha$ -sécrétase ; sAPP $\alpha$  : fragment soluble APP $\alpha$  libéré dans l'espace extracellulaire ; AICD : domaine intracellulaire de l'APP ; p3 : A $\beta_{(17-42)}$ .

### ***b. La voie amyloïdogénique***

La voie amyloïdogénique (Fig. 10), correspond à la dégradation pathologique de l'APP, au cours de laquelle cette protéine va être dans un premier temps clivée par la  $\beta$ -sécrétase qui est très active au niveau neuronal de part sa forte expression dans ce type de cellule (Haass et al., 1992 ; Seubert et al., 1993 ; Cole et Vassar, 2007). Ce clivage libère deux fragments : un premier fragment extracellulaire soluble appelé sAPP $\beta$  (plus court que le sAPP $\alpha$ ) et un second fragment C-terminal ancré à la membrane plasmique, le C99, qui contient la totalité du peptide A $\beta$ . Le fragment N-terminal sAPP $\beta$ , contrairement au sAPP $\alpha$ , aurait des propriétés pro-inflammatoires de par sa capacité à activer la glie et à augmenter la production de cytokines (Li et al., 2000). Le fragment C99 est ensuite clivé par la  $\gamma$ -sécrétase

induisant la formation d'un peptide intracellulaire (AICD) et de peptides amyloïdes A $\beta$ , libérés au niveau extracellulaire. Plusieurs formes d'A $\beta$  de différentes tailles (entre 37 et 43 acides aminés) existent. Les deux formes majoritaires comprennent 40 et 42 acides aminés (A $\beta_{(1-40)}$  et A $\beta_{(1-42)}$ ). Le site précis du clivage du fragment C99 par la  $\gamma$ -sécrétase a une influence importante sur le potentiel d'auto-agrégation du peptide A $\beta$  libéré ainsi que sur sa pathogénicité qui en résulte. La  $\beta$ -sécrétase est une enzyme active à pH acide, ce qui suggère que, contrairement à la voie non-amyloïdogène, la voie amyloïdogène se produit au sein des compartiments intracellulaires (Daugherty et Green, 2001).



**Fig. 10 : Représentation schématique de la protéolyse de l'APP – la voie amyloïdogène.** La protéine APP est clivée par la  $\beta$ -sécrétase puis par la  $\gamma$ -sécrétase entraînant la formation et la libération de peptides A $\beta$  de différentes tailles. C99 : fragment résultant du clivage de la protéine APP par la  $\beta$ -sécrétase ; sAPP $\beta$  : fragment soluble APP $\beta$  libéré dans l'espace extracellulaire ; AICD : domaine intracellulaire de l'APP ; A $\beta$  : peptide amyloïde- $\beta$ .

### C. Le peptide A $\beta$

Comme nous l'avons vu précédemment, le peptide A $\beta$  est un produit naturel du métabolisme de l'APP existant sous la forme de 37 à 43 acides aminés. D'un point de vue physiologique, le peptide A $\beta_{(1-40)}$  est exprimé environ 10 fois plus que l'A $\beta_{(1-42)}$  et possède des capacités d'agrégation lentes (Irie et al., 2005), alors que la forme A $\beta_{(1-42)}$  possède une forte propension à s'agréger et est responsable des principaux effets cytotoxiques des amyloïdes.

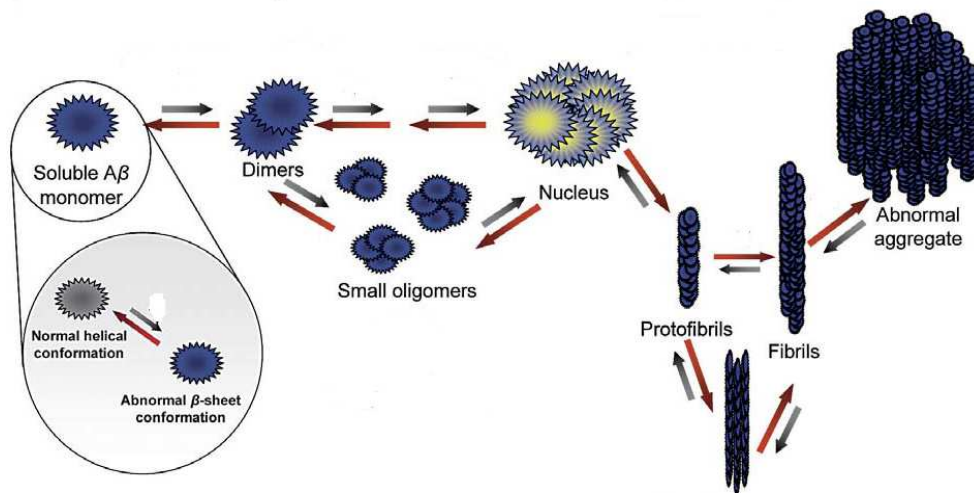
Par ailleurs, le ratio de ces deux formes est largement en faveur de la forme  $A\beta_{(1-40)}$  dans des conditions normales, alors que celui-ci bascule en faveur de la forme  $A\beta_{(1-42)}$  dans la MA.

#### *a. Le processus d'agrégation du peptide $A\beta$*

Durant les premiers stades de la MA, une détérioration neuronale est observée chez les patients bien avant la formation de plaques séniles, ce qui a conduit à l'hypothèse que les composés intermédiaires produits via le métabolisme de l'APP seraient toxiques et que les plaques séniles seraient une conséquence de leur agrégation (pour revue : Walsh et Teplow, 2012). De nombreux efforts ont donc été consentis afin de caractériser les molécules intermédiaires au cours du processus d'agrégation des  $A\beta$  en utilisant différentes approches, telles que l'isolement des formes agrégées d' $A\beta$  dans le liquide céphalo-rachidien ou dans les tissus post-mortem de patients souffrant de MA. Ainsi, des purifications par chromatographie d'exclusion ou ultracentrifugation (Lue et al., 1999 ; McLean et al., 1999 ; Cleary et al., 2005), ainsi que des études cinétiques et structurales *in vitro* en utilisant des peptides  $A\beta$  synthétiques ou recombinés (Walsh et al., 2001) ont été effectuées. Il a été montré que le peptide  $A\beta$  pouvait exister sous différentes formes d'agrégations telles que des monomères et des petits oligomères solubles et sous forme fibrillaire insoluble. Un autre état d'agrégation a été identifié : les ADDLs ( $A\beta$ -Derived Diffusible Ligands) possédant des structures globulaires particulières.

Le modèle d'agrégation du peptide  $A\beta$ , admis par la majorité de la communauté scientifique, est basé sur un mécanisme de polymérisation dépendant de la nucléation du peptide, suivie par la croissance rapide des oligomères via l'incorporation de nouvelles molécules d' $A\beta$ , et aboutissant à la formation de fibrilles et d'agrégats (Lomakin et al., 1996 ; Caughey et al., 2003) (Fig. 11). Cette nucléation des  $A\beta$  semble spécifique car des essais de nucléations d'autres protéines amyloïdogènes n'ont pas conduit de manière efficace à la formation d' $A\beta$  fibrillaire (O'Nuallain et al., 2004). Par ailleurs, l'agrégation des  $A\beta$  requiert une concentration minimale d' $A\beta$  (entre 10-40 $\mu$ M) pour l' $A\beta_{(1-40)}$  et une concentration environ 5 fois plus importante pour l' $A\beta_{(1-42)}$  (Sengupta et al., 2003). Ceci laisse suggérer que, d'une part, une concentration minimale est nécessaire pour l'agrégation ordonnée de l' $A\beta$ , et d'autre part, une concentration maximale existe au-delà de laquelle il se produit des agrégations non spécifiques (Finder et Glockshuber, 2007). Par ailleurs, il a été suggéré i) que le processus d'agrégation d'un même peptide  $A\beta$  pouvait différer en fonction de sa concentration initiale (Huang et al., 2000), et ii) que les  $A\beta_{(1-40)}$  et  $A\beta_{(1-42)}$  s'agrégeaient selon deux voies différentes (Bitan et al., 2003 ; Lazo et al., 2005).





**Fig. 11 : Processus d'agrégation du peptide Aβ de la forme monomérique à la formation d'agrégats (D'après Finder et Glockshuber, 2007)**

D'un point de vue structural, les formes monomériques d'Aβ existent en équilibre entre une conformation de type hélice  $\alpha$  et une conformation de type feuillets  $\beta$ . Il semblerait que la conformation des monomères d'Aβ en feuillets  $\beta$  soit un pré-requis pour l'agrégation du peptide (Lazo et al., 2005) et son passage vers un degré de polymérisation plus élevé (Mastrangelo et al., 2006). Une seconde hypothèse suggère que les monomères d'Aβ s'accumulent sous forme d'oligomères de plus haut degré de polymérisation tout en conservant leur conformation en hélice  $\alpha$  (Kirkitadze et al., 2001) et que la transition vers une conformation en feuillets  $\beta$  n'intervient que lors du passage du stade de petits oligomères solubles vers un stade d'oligomères de plus haut rang, insolubles, qui présentent tous une structure en feuillets  $\beta$  (Walsh et al., 1999). La formation de fibrilles quant à elle, semble conduite par des contacts hydrophobiques entre 3 et 6 protofibrilles (Li et al., 1999). Par ailleurs, il a été montré un « recyclage » moléculaire au sein des fibrilles, où les Aβ peuvent se dissocier de la partie terminale d'une fibrille et se réassocier avec une autre (Carulla et al., 2005), ce qui suggère que le principe de formation des fibrilles est un phénomène réversible.

#### ***b. Les formes solubles du peptide Aβ (sAβ) et leur neurotoxicité***

Outre la présence de plaques fibrillaires d'Aβ, les formes oligomériques et solubles d'Aβ (sAβ) peuvent entraîner le développement de la MA. En effet, une grande variété d'espèces de sAβ cytotoxiques ont été identifiées dans des lysats de cerveaux de patients atteints de MA, et il semble que celles-ci peuvent exercer une large variété d'effets pathologiques (Shankar et al., 2008 ; Walsh et al., 2002 ; Mucke et Selkoe, 2012). Les sAβ sont définies comme des associations d'Aβ de différents degrés de polymérisation, solubles dans des fluides physiologiques et ayant la capacité de se lier à d'autres macromolécules ou à

la membrane cellulaire et qui, par conséquent, ont la capacité de devenir insolubles (Haass et Selkoe, 2007). Les sA $\beta$ o existent sous différentes formes (monomérique, dimérique, petits oligomères globulaires, ADDL).

Les monomères d'A $\beta$  sont des molécules solubles amphiphiles générées à partir de l'APP et ne présentant pas de caractéristiques cytotoxiques. Les formes dimériques d'A $\beta$  semblent posséder une localisation intracellulaire (Walsh et al., 2000), et augmentent avec l'âge et la charge amyloïde chez des modèles murins transgéniques ainsi que chez l'Homme (Larson et Lesné, 2012). Des études ont démontré la neurotoxicité de ces dimères (Hung et al., 2008 ; Ono et al., 2009) ainsi que leur potentiel à inhiber la potentialisation à long terme (PLT qui est un paradigme expérimental de la plasticité synaptique) sur des cultures cellulaires d'HPC (Shankar et al., 2007, 2008).

Les petits oligomères solubles sont observés chez les patients souffrant de MA, ainsi que chez certains modèles murins de la MA et également dans des expériences *in vitro*. Ils sont composés de 3 à 50 monomères d'A $\beta$ , sont instables et transitoires mais très neurotoxiques (Walsh et al., 2002a ; Walsh et al., 2002b). Les ADDLs, quant à eux, ont également été observés *in vivo* chez l'Homme ainsi que chez l'animal (Lambert et al., 1998). Ce sont des composés non fibrillaires et neurotoxiques dont la taille peut varier de 17 à 42 kDa. De manière intéressante, le niveau d'ADDLs semble être bien corrélé avec les déficits cognitifs observés dans la MA (Georganopoulou et al., 2005) et bloquerait *in vitro* la PLT (Stine et al., 2003).

Plus généralement, les sA $\beta$ o ne corréleront pas forcément d'un point de vue spatial et temporel avec les plaques amyloïdes, mais ils ont été retrouvés dans des régions cérébrales présentant de fortes pertes neuronales telles que l'HPC. En effet, il semblerait que la présence de sA $\beta$ o soit un meilleur marqueur neurobiologique de la démence de type Alzheimer que la charge en plaques amyloïdes (Tomic et al., 2009). Cette hypothèse a été confirmée par des études sur des souris transgéniques portant une mutation du gène APP et présentant des perturbations électrophysiologiques, neuro-anatomiques et comportementales bien avant l'apparition de plaques amyloïdes visibles (Holcomb et al., 1999 ; Mucke et al., 2000). Par ailleurs, les souris accumulant des formes oligomériques d'A $\beta$  développent des perturbations synaptiques, une augmentation des processus inflammatoires ainsi que des déficits cognitifs (Tomiya et al., 2010 ; Zhang et al., 2014). De plus, alors que l'effet neurotoxique des sA $\beta$ o *in vivo* est encore soumis à discussion, des études ont montré qu'ils intervenaient directement dans la phosphorylation de tau *in vitro* et *in vivo* (Jin et al., 2011 ; Ma et al., 2009). Certains auteurs se sont également intéressés à leurs rôles physiologiques. Ainsi, il a été démontré qu'à

faible dose (pM) correspondant au niveau d'A $\beta$  d'un individu sain, les sA $\beta$ o entraînent une augmentation de la PLT, alors qu'inversement, à forte doses (nM ou  $\mu$ M), ils induisent un blocage de la PLT (Puzzo et al., 2008). Ces données suggèrent que la fonction normale des sA $\beta$ o serait de moduler positivement la plasticité synaptique.

Cependant, des questions restent encore à élucider, et notamment le fait de savoir quels types d'A $\beta$  conduisent spécifiquement à la pathologie (Musiek et Holtzman, 2015), même s'il apparaît d'après la multitude d'études effectuées que l'activité conduisant à la démence peut se produire à travers une large gamme d'oligomères (Cerasoli et al., 2015).

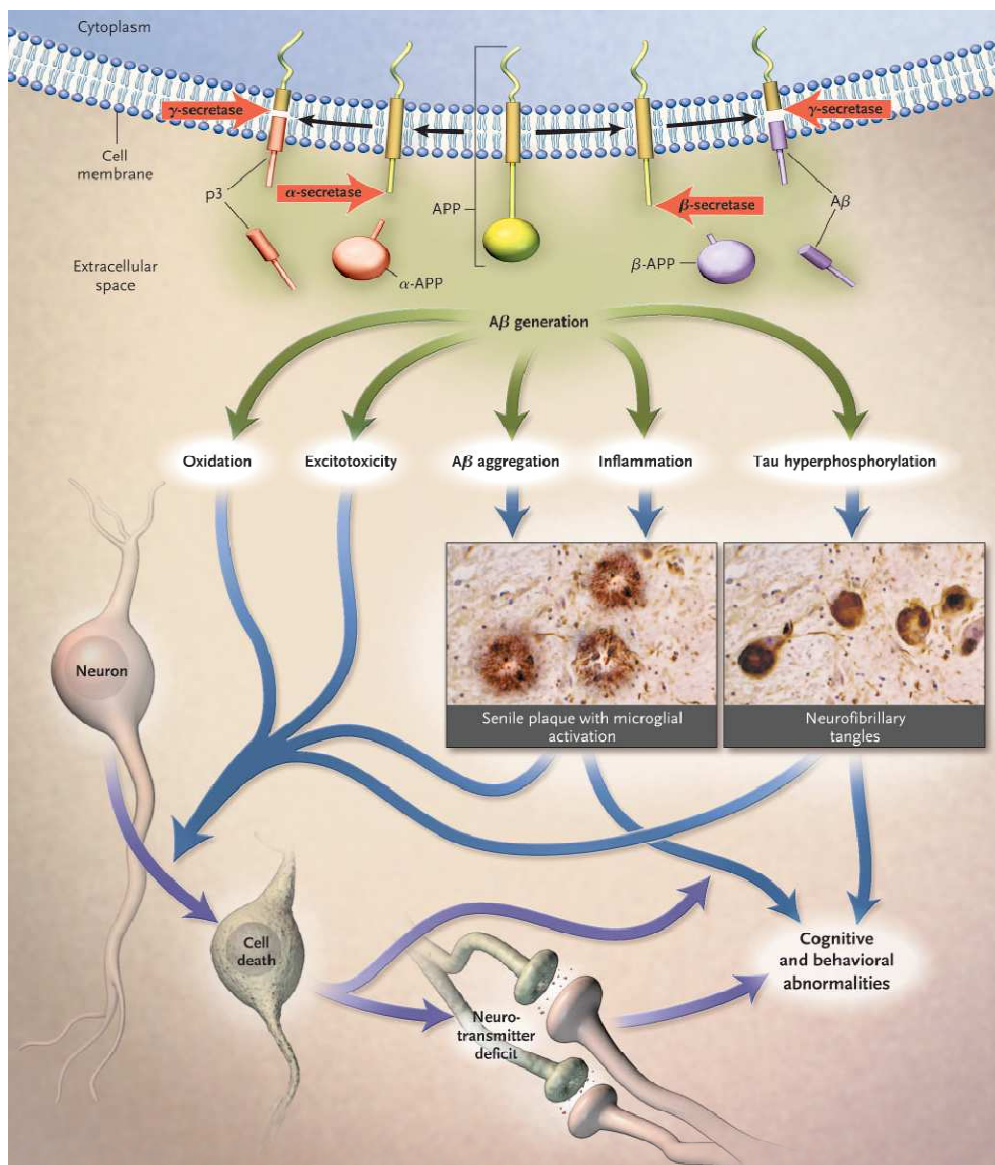
### III. Peptide A $\beta_{(1-42)}$ et hypothèse amyloïde

Les peptides A $\beta$  jouent un rôle primordial dans le développement de la MA, ce qui a conduit de nombreux auteurs à formuler l'hypothèse amyloïde. Cette hypothèse est basée sur le fait que l'accumulation de fibrilles amyloïdes conduit selon une cascade d'événements aux atteintes neuronales et cognitives caractéristiques des stades avancés de la MA (Hardy et Higgins, 1992) (Fig. 12). De plus, cette hypothèse suggère qu'il existe une dérégulation de la balance entre production et clairance du peptide A $\beta_{(1-42)}$ , ce qui conduit à son accumulation et à la formation de dépôts amyloïdes (Hardy et Selkoe, 2002). Selon cette hypothèse, la toxicité du peptide A $\beta_{(1-42)}$  serait par conséquent à l'origine des dysfonctionnements synaptiques, des DNF et des pertes neuronales conduisant aux symptômes de démence, et ce, aussi bien dans les formes familiales que dans les formes sporadiques de la MA (Hardy et Selkoe, 2002).

L'hypothèse amyloïde semble expliquer et incorporer un certain nombre d'éléments clés qui sont associés au développement des formes familiales et sporadiques de la MA.

En effet, les mutations intervenant dans les formes familiales de la MA (APP, PS1, PS2) entraînent une accumulation d'A $\beta_{(1-42)}$  (Bettens et al., 2013). Ces mutations pathologiques sont en général regroupées dans des régions spécifiques du cerveau et servent à potentialiser le clivage de l'APP par la  $\beta$ -sécrétase, ou à augmenter la production relative d'A $\beta_{(1-42)}$  par rapport aux autres formes plus courtes de ce peptide (Bettens et al., 2013 ; Citron et al., 1992). Ainsi, l'agrégation des A $\beta_{(1-42)}$  semble bien plus déterminante dans l'initiation des formes familiales de la MA que les altérations de la fonction des présénilines ou du métabolisme de l'APP. Par ailleurs, des études ont démontré que les patients atteints de forme familiale de MA développent des plaques amyloïdes bien avant l'apparition de DNF et

de pertes neuronales (Shepherd et al., 2009 ; Bateman et al., 2012). Dans un modèle murin triple transgénique, combinant la pathologie amyloïde et les DNF, il a été observé que la pathologie amyloïde se développait avant l'apparition de DNF (LaFerla et Oddo, 2005). De plus, plusieurs travaux ont mis en évidence que les oligomères d'A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> jouent un rôle dans l'activation de la protéine GSK3 $\beta$  impliquée dans la phosphorylation pathologique de la protéine tau (Tomiyana et al., 2010 ; Zempel et al., 2010). Bien que ces mutations entraînent une importante production d'A $\beta$ , il n'en demeure pas moins qu'elles n'accélèrent pas la progression de la maladie, ce qui laisse suggérer que les A $\beta$  seraient un initiateur de la pathologie, mais pas un acteur majeur de la neurodégénération elle-même (Ryman et al., 2014).



**Fig. 12 : Représentation schématique de l'hypothèse amyloïde de la MA et de ses conséquences (D'après Cummings, 2004).** L'accumulation d'A $\beta$  consécutive à la protéolyse de l'APP induit différents processus oxydatif, inflammatoire, hyperphosphorylation de tau, excitotoxicité, tous conduisant à la mort neuronale et à l'apparition des troubles cognitifs et comportementaux.

En ce qui concerne les formes sporadiques de la MA, le facteur de risque génétique le plus important est l'ApoE4 qui conduit à une augmentation de l'agrégation et du dépôt des A $\beta$  au niveau cérébral tout en diminuant leur clairance (Verghese et al., 2011 ; Castellano et al., 2011 ; Fagan et al., 2002). De plus la réduction, génétique ou par immunisation, des niveaux d'ApoE, diminue la charge de plaques amyloïdes chez la souris (Bales et al., 1997 ; Bien-Ly et al., 2012).

D'un point de vue clinique, l'utilisation du PET-scan avec le biomarqueur  $^{11}\text{C}$ -PiB, permettant de visualiser les dépôts amyloïdes en imagerie cérébrale a permis d'établir un lien entre la charge amyloïde et l'altération de la mémoire verbale (Resnick et al., 2010) et épisodique chez les patients atteints de MCI (Forsberg et al., 2008). Cependant, l'association entre les dépôts amyloïdes et le déclin cognitif ne serait observable que dans les stades précoces de la maladie (Rabinovici et al., 2009). De plus, des essais thérapeutiques par immunothérapie ont donné des résultats encourageants d'un point de vue neuropathologique (Masliah et al., 2005) et cognitif (Hock et al., 2003), mais provoquent de nombreux effets secondaires ce qui a conduit à l'arrêt des essais cliniques (Orgogozo et al., 2003 ; Gilman et al., 2005).

Enfin, une étude récente a permis d'identifier une mutation protectrice sur le gène *APP* qui diminue la production d'A $\beta_{(1-42)}$  ainsi que le risque de développer la MA, ce qui fournit un autre argument en faveur de l'hypothèse amyloïde (Jonsson et al., 2012).

Cependant, malgré l'important corpus de données expérimentales en adéquation avec cette hypothèse, celle-ci est toujours soumise à controverse. En effet, les principaux arguments avancés à l'encontre de l'hypothèse amyloïde reposent sur différents aspects biochimiques, pré-cliniques et cliniques (pour revue : Herrup, 2015) :

- La surexpression de l'APP humain chez la souris n'entraîne pas la production de DNF et ne conduit pas à un processus neurodégénératif
- Les DNF corrèlent mieux avec la neurodégénération que les plaques amyloïdes
- Des individus présentant une charge amyloïde importante peuvent garder des fonctions cognitives intactes
- Aucun essai clinique en phase 3 basé sur cette hypothèse n'a donné de résultat satisfaisant

Cependant, malgré ces divergences, il apparaît que les premiers traitements anti-amyloïdes, utilisant des anticorps monoclonaux d'A $\beta$  chez des patients présentant une charge amyloïde importante associée à des déficits cognitifs entraînent une amélioration de leur

capacité mnésique, ce qui apparaît comme la preuve la plus évidente de la validité de cette hypothèse.

## IV. Les modèles animaux de la MA

### 1. Les modèles murins transgéniques

La MA n'existe pas sous forme sporadique chez les animaux, excepté chez le microcèbe âgé (*microcebus murinus*), un primate non humain. Afin d'étudier cette pathologie, différents modèles de souris transgéniques ont été mis au point (pour revues : Duyckaerts et al., 2008 ; Hall and Roberson, 2012 ; Elder et al., 2010 ; Webster et al., 2014). La grande majorité de ces modèles fait écho à l'hypothèse amyloïde et est basée sur l'expression des gènes APP, PS1 et/ou PS2 humains sauvages ou mutés, seuls ou combinés, sous le contrôle de divers promoteurs. Les mutations de l'APP (*London, Swedish, Indian, Dutch...*) ont très largement été utilisées sous la forme de mutations simples comme dans le cas des lignées APP23 (Sturchler-Pierrat et al., 1997), Tg2576 (Hsiao et al., 1996) ou PDAPP (Games et al., 1995) induisant une forte production de peptide A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>, des troubles comportementaux, cognitifs et synaptiques. (Balducci et Forloni, 2011). En revanche, aucun de ces modèles ne présente de DNF. Les modèles possédant une double mutation portant sur les gènes de l'APP et de la préséniline (APP-PS1) ont été envisagés. Ces modèles présentent un phénotype très similaire à ceux des simples mutations sur l'APP, mais avec une accélération de l'accumulation d'A $\beta$  et une pathologie amyloïde plus précoce et plus agressive (Jankowsky et al., 2004 ; Garcia-Alloza et al., 2006). Enfin, des souris triples transgéniques portant les transgènes APP(Swe), PS1 et tau mutés ont été étudiées (Oddo et al., 2003). Ce modèle a l'avantage de présenter, en plus de la pathologie amyloïde et des troubles cognitifs, des accumulations de protéine Tau conduisant à la formation de DNF (Oddo et al., 2003). D'autres modèles transgéniques basés sur l'insertion d'un transgène codant pour une protéine Tau mutée ont également été mis au point (pour revue Duyckaerts et al., 2008).

Comme nous venons de le voir, ces modèles murins sont intéressants et largement utilisés dans l'étude la MA, car ils développent les symptômes de la maladie de manière progressive et présentent certaines atteintes neuropathologiques et cognitives bien caractérisées. Cependant, il est important de souligner qu'il n'existe pas à l'heure actuelle de modèle murin développant toutes les caractéristiques de la pathologie (Hall et Roberson, 2010). De plus, les modèles transgéniques basés sur une mutation du gène codant pour l'APP ont été remis en cause depuis que de nombreuses études ont démontré que les formes

oligomériques des peptides  $A\beta_{(1-42)}$  seraient responsables des effets neurotoxiques observés dans la MA (voir II.1.C.b).

En effet, des études portant sur la lignée PDAPP ont démontré que les changements anatomiques notamment au niveau du gyrus denté apparaissaient 100 jours avant l'apparition de plaques amyloïdes (Redwine et al., 2003 ; Wu et al., 2004). De même, la lignée de souris Tg2576 présente des modifications électrophysiologiques et comportementales des mois avant l'apparition de dépôts amyloïdes (Jacobsen et al., 2006 ; Stokin et al., 2005). De plus, de telles modifications avant l'apparition de dépôts amyloïdes ont également été décrites dans d'autres lignées de souris APP (Holcomb et al., 1998 ; Hsia et al., 1999 ; Moechars et al., 1999). Enfin, la découverte de modifications pathophysiologiques chez la lignée murine PS1 FAD, qui possède un taux élevé de peptide  $A\beta_{(1-42)}$  mais pas de plaques, est également en accord avec le rôle toxique des formes solubles oligomériques d' $A\beta$ .

### **2. Les modèles d'injections intracérébrales d' $A\beta_{(1-42)}$**

Au vue des travaux démontrant d'une part, le fort pouvoir amyloïdogène du peptide  $A\beta_{(1-42)}$  et d'autre part, l'importance de la cascade amyloïde dans le développement de la MA, de nombreuses études ont étudié l'impact d'injections intracérébrales d' $A\beta_{(1-42)}$  d'un point de vue cognitif et moléculaire. Cependant, il existe une grande variété de résultats parfois contradictoires qui peuvent s'expliquer notamment par la nature du peptide injecté, le mode d'injection (unique ou répété), ainsi que par la région cérébrale ciblée. Dans ce cadre, la majorité des études s'est intéressée aux injections intracérébro-ventriculaires, alors que peu d'études ont évalué les conséquences de l'administration d' $A\beta_{(1-42)}$  dans des régions spécifiques du cerveau comme l'HPC.

#### **A. Les injections intracérébro-ventriculaires (i.c.v)**

L'avantage principal de cette voie d'administration est sa capacité à entraîner une distribution rapide du peptide dans l'ensemble du cerveau. De manière générale, les études ont démontré une perturbation de l'apprentissage spatial ainsi que de la mémoire de référence hippocampo-dépendante consécutivement à une injection i.c.v d' $A\beta_{(1-42)}$  (pour revue : Balducci et Forloni, 2014). En effet, une injection unique d' $A\beta_{(1-42)}$  soluble ou fibrillaire à une dose supérieure à 400pmol induit des déficits de mémoire de référence en piscine de Morris (Choi et al., 2001 ; Jhoo et al., 2004). De la même manière, des injections chroniques entre 3 et 28 jours induisent des déficits d'apprentissage spatial et de mémoire de référence chez le rat et la souris (Nakamura et al., 2001 ; Zaheer et al., 2008). De plus, des

déficits de mémoire non-spatiale à long terme, évaluée *via* l'utilisation de la tâche d'évitement passif, ont également été rapportés. Ces déficits sont consécutifs à une injection aigue ou chronique d'A $\beta_{(1-42)}$  (Van der Stelt et al., 2006 ; Yan et al., 2004), cependant il n'est pas fait état du niveau d'agrégation du peptide dans ces études. Enfin, les résultats concernant l'impact d'injections i.c.v d'A $\beta_{(1-42)}$  sur la mémoire de travail apparaissent contradictoires. En effet, alors que la mémoire de travail est perturbée chez la souris après une injection unique d'A $\beta_{(1-42)}$  lorsque la mémoire est évaluée 24 heures après l'injection (Yan et al., 2004), l'injection d'A $\beta_{(1-42)}$  ne semble pas avoir d'effet lorsque la mémoire est évaluée une ou deux semaines après l'injection (Choi et al., 2001) ce qui laisse suggérer que les effets délétères sur la mémoire de travail liés aux injections d'A $\beta_{(1-42)}$  ne persistent pas dans le temps. Par ailleurs, l'injection chronique i.c.v d'A $\beta_{(1-42)}$  pendant 21 jours n'a aucun impact sur l'activité locomotrice des souris lorsque celle-ci est évaluée 2 jours après la fin de l'injection (Chiba et al., 2005).

### **B. Les injections intra-hippocampiques**

Un nombre limité d'études a étudié les effets d'injections d'A $\beta_{(1-42)}$  directement au niveau de l'HPC sur les processus mnésiques chez le rongeur. Une injection unique de formes agrégées d'A $\beta_{(1-42)}$  au niveau hippocampique induit une perturbation à long terme de la mémoire de travail dans une épreuve de labyrinthe radiaire, (Winkler et al., 1994 ; Hruska et al., 2007), ainsi qu'une perturbation de mémoire à court terme non-spatiale dans une épreuve de reconnaissance sociale lorsque les animaux sont testés 22 et 65 jours après la fin de l'injection (Christensen et al., 2008). Toutefois, comme nous l'avons vu précédemment, les formes oligomériques solubles seraient un meilleur marqueur de la MA de par leur forte neurotoxicité (Viola et Klein, 2015). Des études se sont donc intéressées à l'impact d'injections intra-hippocampiques de sA $\beta_{(1-42)}$  sur les fonctions mnésiques. Il a été démontré qu'une injection de sA $\beta_{(1-42)}$  au niveau hippocampique induisait une perturbation de la mémoire de travail spatiale testée dans un labyrinthe en T, lorsque le test est réalisé 10 min après l'injection (Pearson-Leary et McNay, 2012). De plus, des injections répétées de sA $\beta_{(1-42)}$  dans l'HPC de souris induisent une perturbation de la mémoire non spatiale à long terme dans une tâche d'évitement passif 24 heures après la dernière injection, ainsi qu'une perturbation de la mémoire spatiale 5 jours après la dernière injection. Ces injections entraînent également des pertes neuronales, une hyperphosphorylation de tau, une augmentation de l'activité de la caspase 3 (traduisant un phénomène apoptotique) ainsi qu'une diminution de l'expression des récepteurs glutamatergiques NMDA (Brouillette et al., 2012).



Les injections intracérébrales d'A $\beta_{(1-42)}$  semblent donc être un bon modèle pour étudier spécifiquement les effets engendrés par les peptides amyloïdes. Au vue de l'importance de l'HPC dans les fonctions mnésiques et de son atteinte précoce dans la MA, nous avons utilisé au cours de notre étude un modèle animal basé sur des injections répétées de formes solubles et oligomériques d'A $\beta_{(1-42)}$  au niveau de l'HPCd et plus particulièrement dans la région CA1.

## **Partie II : L'hippocampe: Rôle dans les processus mnésiques et atteinte dans la maladie d'Alzheimer**

### **I. Anatomie de l'hippocampe**

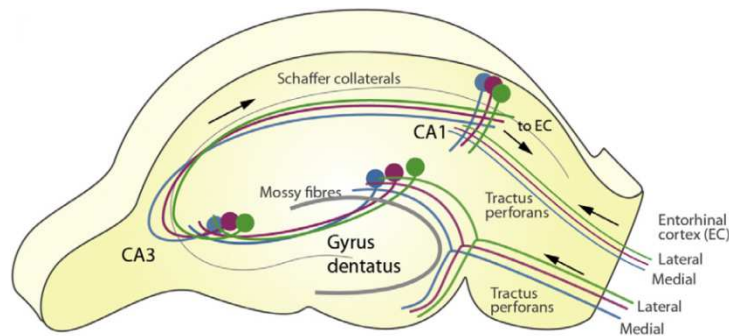
#### **1. Cytoarchitecture de l'hippocampe**

La formation hippocampique, qui est la structure centrale du lobe temporal médian, présente une structure tridimensionnelle complexe qui se situe au niveau sous-cortical à la croisée des structures néocorticales et diencephaliques (Amaral et Witter, 1995). Chez les mammifères, la formation hippocampique est constituée principalement par deux couches cellulaires distinctes. La couche cellulaire du gyrus denté (GD) constitue le premier des deux champs cellulaires. Le second champ est constitué par le subiculum et la couche des cellules pyramidales des champs ammoniques. Le GD comme les champs ammoniques, peuvent être dissociés en plusieurs couches distinctes. Le GD est constitué de trois couches cellulaires : la couche moléculaire, la couche granulaire et le hilus. Les champs ammoniques sont plus complexes car ils sont constitués de sept couches distinctes (Lavenex et Amaral, 2000). La différence entre ces couches est principalement basée sur la présence ou non de corps cellulaires pyramidaux, des axones ou des dendrites de ces cellules. Au sein des champs ammoniques, elle aboutit à la distinction de différents sous-champs cellulaires (CA1, CA2, CA3). Au niveau de l'HPCd, le CA1 constitue la région supérieure tandis que le CA2 et le CA3 forme la région inférieure. Il est à noter que la plupart des auteurs ne distinguent pas le CA2 du CA3, notamment chez la souris, du fait de sa très faible extension et considèrent plutôt le CA2 comme la partie distale du CA3. Ces champs ammoniques contiennent essentiellement des cellules pyramidales dont la taille diffère selon le champ auquel elles appartiennent. Ainsi, les cellules du CA3 sont des cellules pyramidales géantes tandis que les cellules du CA1 sont plus petites.

#### **2. Les connections intra-hippocampiques**

L'organisation cellulaire et de la connectivité intrinsèque de l'HPC fut initialement décrite par le neuroanatomiste Ramon Y Cajal en 1911. Les cellules granulaires du GD reçoivent des afférences des cellules pyramidales du cortex entorhinal (formant la voie perforante) et projettent ensuite sur les cellules pyramidales du CA3 via les fibres moussues. Le CA3 projette à son tour sur les cellules pyramidales du CA1, via les collatérales de Schaffer, qui envoient leurs projections hors de l'HPC, vers le subiculum qui contacte en

retour le cortex entorhinal formant ainsi une boucle anatomique trisynaptique (Fig. 13). En plus de ce système, des connexions locales sont régies par de nombreux interneurons auxquels s'ajoutent des connexions CA3-CA3 via des fibres récurrentes. De nombreux auteurs ont d'ailleurs signalé l'importance fonctionnelle de ces projections récurrentes du CA3, notamment dans l'acquisition rapide d'informations (Rolls et Kesner, 2006). Enfin, il faut ajouter l'existence d'une projection directe du cortex entorhinal sur les neurones pyramidaux du CA3 et du CA1. Il est à noter que le CA1 est la seule région du circuit à projeter directement en retour sur le cortex entorhinal.



**Fig. 13 : Connexions intra-hippocampiques du circuit tri-synaptique (D'après Bartsch et Wulff, 2015).** Le cortex entorhinal (EC) contacte le gyrus denté *via* la voie perforante. Le gyrus denté projette vers la couche pyramidale CA3 *via* les fibres mousses (Mossy fibers). Les neurones du CA3 contactent alors le CA1 par les collatérales de Schaffer. Les projections du CA1 vers le subiculum constituent la voie de sortie du circuit.

### 3. Les connexions extrinsèques de l'hippocampe

La grande majorité des afférences hippocampiques passe par le cortex entorhinal, qui reçoit lui-même des projections des cortex périrhinal, piriforme, insulaire, rétrospénial, préfrontal ainsi que du bulbe olfactif. L'ensemble de l'HPC reçoit des projections provenant du septum médian formant ainsi la voie septo-hippocampique qui est majoritairement cholinergique. L'HPC reçoit également des projections noradrénergiques provenant du locus coeruleus, sérotoninergiques provenant des noyaux du raphé et dopaminergiques provenant de l'aire tegmentale ventrale. De manière plus spécifique, le CA1 reçoit des afférences thalamiques et amygdaliennes (Amaral et Witter, 1995).

La principale voie de sortie de l'HPC s'effectue *via* le subiculum qui projette par la suite sur un grand nombre d'aires corticales comme le cortex préfrontal médian (CPFm) (composé des cortex prélimbique : PL et infralimbique : IL), orbitofrontal, rétrospénial et entorhinal. La région septale constitue la région sous-corticale recevant le plus de projections

hippocampiques. Enfin, l'HPC projette également sur les noyaux des bulbes olfactifs, le noyau accumbens, l'hypothalamus et l'amygdale (Amaral et Witter, 1995).

Ainsi, ces connections directes ou indirectes avec de nombreuses aires impliquées dans les processus mnésiques et émotionnels (telles que le CPF, le thalamus, l'amygdale ou la région septale) renforcent l'hypothèse d'un rôle intégrateur de l'HPC dans les différents systèmes de mémoire.

## **II. L'interaction hippocampe-cortex préfrontal et la MA**

Comme nous l'avons vu précédemment (*Cf: Partie I. I.2.C*), les dépôts amyloïdes touchent dans un premier temps les régions corticales et notamment le CPF, avant d'atteindre dans un second temps, les régions du lobe temporal médian et notamment l'HPC (Thal et al., 2002). La mémoire de travail, qui est la forme de mémoire la plus précocement affectée (avec la mémoire épisodique), dans la MA (*Cf: Partie I. I.3.A*) dépend fortement de l'intégrité du CPFm et cingulaire antérieur (Heidbreder et Groenewegen, 2003). En effet, le CPFm et plus particulièrement le PL semble soutenir les fonctions exécutives de sélection de l'information pertinente et d'inhibition des informations non pertinentes (Balleine et Dickinson, 1998 ; Dalley et al., 2004 ; Taylor et al., 2004), qui sont des opérations critiques pour la mémoire de travail (Kane et Engle, 2002 ; Burgess et Braver, 2010).

### **1. Interactions structurelles et neurofonctionnelles hippocampo-préfrontales**

Comme nous l'avons vu précédemment, il existe de nombreuses interactions entre l'HPC et le CPF aussi bien fonctionnelles que structurelles (pour revue : Laroche et al., 2000). Plus précisément, des injections de marqueurs rétrogrades et antérogrades ont montré que seules les régions hippocampiques du CA1 et du subiculum projetaient sur le CPFm et le cortex orbito-frontal (Goldman-Rakic et al., 1984 ; Jay et Witter, 1991 ; Barbas et Blatt, 1995 ; Carmichael et Price, 1995). A l'inverse, l'HPC ne reçoit pas de projection directe en retour (Witter et al., 1989), mais il existe des projections indirectes, notamment par l'intermédiaire du noyau reuniens du thalamus (Vertes, 2004). Plusieurs expériences lésionnelles effectuées chez le rat ont démontré que l'HPC et plus particulièrement l'HPC dorsal (HPCd) était nécessaire dans une épreuve de mémoire de travail en alternance différée (Maruki et al., 2001 ; Wang et Cai, 2006). Plus récemment, la combinaison de lésions ipsi ou controlatérales dans l'HPCd et le CPFm a mis en évidence le rôle primordial de l'intégrité de la voie hippocampo-préfrontale dans la mémoire de travail (Izaki et al., 2008).

Les mécanismes cellulaires et moléculaires sous-tendant les connexions hippocampo-frontales ont largement été étudiées via l'approche électrophysiologique. Chez le rat anesthésié l'application de stimulations à hautes fréquences au niveau hippocampique provoque une PLT, rapide et stable au niveau du PL (Laroche et al., 1990). D'autres expériences ont renforcé cette observation, notamment en démontrant que ce mode d'induction de la PLT dans le PL induisait l'activation rapide de la protéine kinase A (PKA) et des cascades moléculaires en aval (Jay et al., 1998).

D'autres expériences visant à étudier le lien entre la dépression à long terme (DLT) et la mémoire de travail ont également été entreprises. L'une de ces expériences a été effectuée dans un labyrinthe radiaire à huit bras, composée d'une première phase, au cours de laquelle les rats devaient visiter quatre des huit bras pour obtenir une récompense alimentaire, suivie d'une seconde, séparée de la première par un délai de 30 min, durant laquelle les rats devaient choisir les quatre bras non visités. Les résultats de cette expérience ont révélé une diminution de la réponse synaptique hippocampo-préfrontale pendant le délai, qui se prolongeait pendant la seconde phase de test de manière proportionnelle à l'augmentation des performances (Burette et al., 2000). L'une des hypothèses exposées serait que la DLT, en augmentant le ratio signal-bruit de fond permettrait d'inhiber les informations interférentes afin de ne conserver que les informations pertinentes et nécessaires à la réalisation de la tâche de mémoire de travail. Cette hypothèse a été confirmée par l'utilisation de souris déficientes dans des formes spécifiques de DLT, qui présentaient des déficits de mémoire de travail liés à l'incapacité de supprimer des informations précédemment acquises (Nicholls et al., 2008). Par la suite, en utilisant des souris présentant une inactivation de la PKA au niveau du CA1 et de certaines couches corticales, il a été observé chez ces animaux une facilitation de la DLT, corrélée à une augmentation de leurs performances en mémoire de travail, probablement liée à leur capacité accrue à supprimer les informations non pertinentes pour la réalisation de la tâche (Malleret et al., 2010). Cependant, il a été observé que ces animaux présentaient une diminution des performances dans des tâches de mémoire à long terme. Ces résultats suggèrent un rôle inverse des mécanismes de plasticité entre les différentes formes de mémoire : la PLT sous-tendrait la mémoire à long terme en consolidant les informations acquises au fur et à mesure de l'apprentissage, alors que la DLT permettrait de supprimer les informations interférentes provenant des essais précédents lors d'une épreuve de mémoire de travail (Malleret et al., 2010).

Tous ces résultats montrent le rôle majeur et indispensable joué par l'HPC dans la mémoire de travail, en interagissant avec le cortex préfrontal, et par conséquent

l'importance de l'intégrité de la voie hippocampo-préfrontale dans ces mêmes processus mnésiques.

### **2. Intérêts dans la MA**

La MA étant une pathologie à progression lente, l'intérêt des recherches s'est porté sur l'étude de marqueurs (notamment mnésiques) permettant un diagnostic précoce des patients présentant un MCI et pouvant développer la MA (Petersen et al., 2012). Au vue, d'une part, de l'atteinte précoce du CPF et de l'HPC par les peptides amyloïdes, et d'autre part, de l'implication de ces deux structures dans la mémoire de travail, il a été suggéré qu'une atteinte de la mémoire de travail, au même titre qu'une atteinte de la mémoire épisodique (également précoce dans la chronologie d'évolution de la maladie) (Cf : Partie 1 I.4.A), pourrait être utilisée comme facteur prédictif permettant (1) d'identifier les patients souffrant de MCI et susceptibles de développer la MA, et (2) d'évaluer le niveau de déclin cognitif dans la MA (Huntley et Howard, 2009 ; Pillai et al., 2014 ; Stevens et Brown, 2015). Enfin, une étude clinique récente suggère que l'amélioration des performances de mémoire de travail chez des sujets souffrant de MCI pourrait être une voie thérapeutique permettant de diminuer le déclin fonctionnel observé chez les patients souffrant de MA (Pillai et al., 2014).

A la lumière de ces observations, il apparaît important d'étudier les troubles de mémoire de travail consécutifs au développement de la pathologie dans le but d'intervenir de manière précoce au cours du développement de la MA.

## **III. La boucle septo-hippocampo-septale et la MA**

Comme nous l'avons vu précédemment (Cf : Partie 2 I.3), il existe des relations anatomiques fortement impliquées dans les processus d'apprentissage et de mémorisation entre l'HPC et le septum, formant ce qui est communément appelé, la boucle septo-hippocampo-septale.

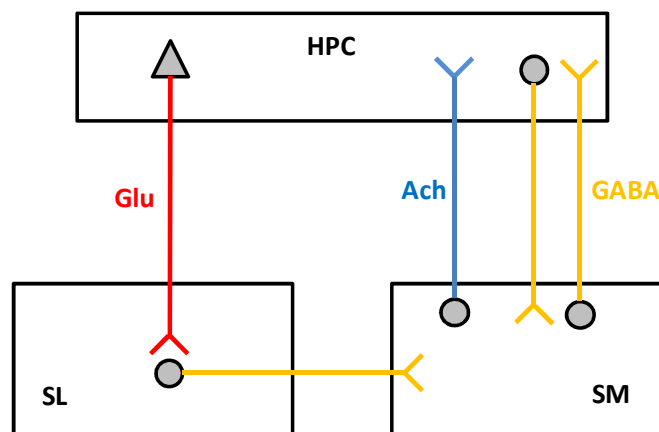
### **1. Le septum**

Le septum est une structure sous-corticale appartenant au système limbique (Rutz et al., 2007) qui est composée de deux régions principales : le septum médian (SM) et le septum latéral (SL) présentant des populations neuronales (Lecouturier et al., 2010 ; Adams et Moghaddam, 2000), ainsi que des afférences, efférences et rôles fonctionnels différents (Rutz et al., 2007). L'acétylcholine et le GABA sont les deux neurotransmetteurs majeurs de la région septale (Follesa et al., 1999 ; Castaneda et al., 2005) qui jouent un rôle central dans la

fonction hippocampique. Il a été démontré que le septum de par ses projections hippocampiques, jouait un rôle important dans l'apprentissage (Flood et al., 1998 ; Lamprea et al., 2006), dans la mémoire (Flood et al., 1998 ; McNay et al., 2006 ; Hasselmo, 2006) et notamment dans la mémoire de référence et la mémoire de travail (Walsh et al., 1996 ; Givens et Olton, 1990 ; Mizumori et al., 1990) ainsi que dans la PLT (Auerbach et Segal, 1994 ; Blitzer et al., 1990 ; Kenney et al., 2008 ; Kanju et al., 2012). De plus, le septum est connu pour jouer un rôle modulateur sur la fonction hippocampique dans l'encodage et la récupération des informations (Sava et Markus, 2008).

## 2. Les interactions structurales et fonctionnelles septo-hippocampo-septales

La boucle septo-hippocampo-septale (Fig. 14) peut être divisée en deux entités distinctes mais interconnectées : d'une part, la voie septo-hippocampique constituée majoritairement de projections cholinergiques et GABAergiques du SM vers l'HPC présentant un rôle dans les processus d'apprentissage et mnésique, et d'autre part, la voie hippocampo-septale qui a pour fonction de réguler l'« input » cholinergique au niveau de l'HPC.



**Fig. 14 :** Représentation schématique de la boucle septo-hippocampo-septale (HPC : hippocampe ; SL : septum latéral ; SM : septum médian ; Ach : neurones cholinergiques ; GABA : neurones GABAergiques ; Glu : neurones glutamatergiques). Le SM envoie des projections cholinergiques et GABAergiques vers l'HPC qui en retour envoie des projections glutamatergiques vers le SL. Le SL projette par l'intermédiaire de neurones GABAergiques vers le SM.

### **A. La voie septo-hippocampique :**

Cette voie est fortement impliquée dans l'apprentissage (Elvender et al., 2004 ; Roland et Savage, 2009) ainsi que dans un grand nombre de processus mnésiques dont la mémoire de travail (Givens et Olton, 1990 ; Pepeu et Blandina, 1998 ; Li et al., 1997 ; Lamprea et al., 2010) et la mémoire à court terme (Klinkenberg et al., 2010). Elle est composée, pour la grande majorité, de neurones cholinergiques et GABAergiques.

Les neurones cholinergiques du SM projettent sur les types cellulaires majeurs de l'HPC que sont les cellules pyramidales, granulaires et les interneurons. Ils établissent des synapses avec l'arborisation dendritique et également avec les corps cellulaires des neurones hippocampiques (van der Zee et Luiten, 1999). D'un point de vue fonctionnel, les neurones cholinergiques, représentant environ 60% des neurones de la voie septo-hippocampique (Woolf, 1998), sont à conduction lente (Gartner et al., 2001) et sont responsables de la génération des vagues lentes du rythme thêta au niveau de l'HPC (Uchida et al., 2001 ; Niewiadomska et al., 2009). De plus, l'activation des neurones cholinergiques du SM améliore la synchronisation des décharges des cellules pyramidales de l'HPC (Ovsepian, 2006), à l'origine de la génération du rythme thêta hippocampique qui est impliqué dans différents processus mnésiques et dans l'encodage des informations (Stanley et al., 2012).

Les neurones GABAergiques du SM forment des synapses avec les interneurons de l'HPC, incluant les interneurons à calbindine et parvabulmine (Freund et Buzsaki, 1988 ; Gulyas et al., 1991) mais également les interneurons GABAergiques (Pascual et al., 2004 ; Henderson et Jones, 2005 ; Zarrindast et al., 2012) dont certains projettent en retour sur le SM formant ainsi la boucle septo-hippocampo-septale (Elvander-Tottie et al., 2006). Cette connexion entre interneurons GABAergiques permet de désinhiber l'HPC et d'augmenter l'excitabilité d'un grand nombre de cellules pyramidales (Lee et al., 1994). Par ailleurs, les neurones cholinergiques du SM présentent des récepteurs GABA-A. Il a été démontré que l'activation de ces récepteurs par un agoniste diminue la libération d'acétylcholine ainsi que la recapture de choline au niveau hippocampique (Flood et al., 1998) alors qu'à l'inverse, le blocage par un antagoniste au niveau septal augmente la recapture de la choline, suggérant le rôle inhibiteur des neurones GABAergiques sur l'activité cholinergique de la voie septo-hippocampique (Pepeu et Blandina, 1998).

### **B. La voie hippocampo-septale**

L'HPC projette en retour vers le SM (Okada et Okaichi, 2010), directement via le fornix ou indirectement via le SL (Ginsberg et Martin, 1998). L'HPC envoie une projection



GABAergiques vers le SM (DeGroot et Treit, 2002, 2003) et une projection glutamatergique vers le SL (Trent et Menard 2010 ; Giovannini et al., 1998) (Fig. 16). La voie GABAergique projette à partir des cellules non-pyramidales du stratum oriens des régions CA1 et CA3 de l'HPC et innerve les neurones cholinergiques et non-cholinergiques du SM (DeGroot et Treit, 2002, 2003 ; Ujfalussy et al., 2007) alors que la voie glutamatergique est originaire des cellules pyramidales du CA1 et CA3 et innervent les neurones GABAergiques du SL (Degroot et Treit, 2002, 2003). L'activation des récepteurs cholinergiques de l'HPC peut, en retour, activer d'une part, les projections GABAergiques qui, lorsqu'elles sont stimulées, entraînent une diminution de l'activité septale, et d'autre part les projections glutamatergiques qui vont stimuler les cellules GABAergiques du SL et également induire une diminution de cette activité (Degroot et Treit, 2002). L'activation du système cholinergique hippocampique induit donc une régulation de cette activité soit par voie GABAergique directe, soit par voie glutamatergique indirecte.

Comme nous venons de le voir, les interactions bidirectionnelles septo-hippocampiques jouent un rôle important dans les processus d'apprentissage et de mémorisation de par l'abondance des projections cholinergiques du SM vers l'HPC. Toutes ces observations ont permis de formuler et d'étayer l'hypothèse cholinergique du vieillissement (qui sera détaillée dans la partie 3), et d'étudier l'implication du système cholinergique de la boucle septo-hippocampo-septale dans l'évolution de pathologies neurodégénératives telles que la MA.

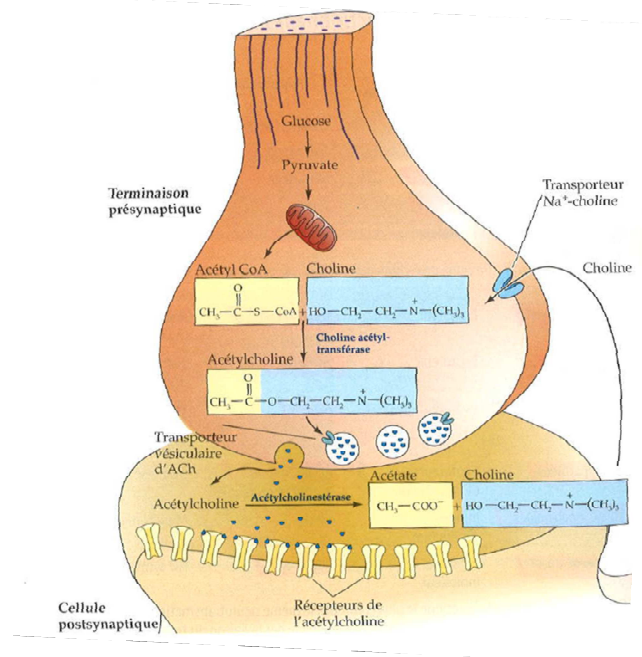
La partie suivante visera donc, d'une part, à définir le système cholinergique d'un point de vue anatomique et fonctionnel et d'autre part, à démontrer ses implications dans le développement de la MA, en se basant notamment sur les relations, existantes ou hypothétiques, entre l'hypothèse amyloïde de la MA et l'hypothèse cholinergique du vieillissement.

## Partie III : Implications du système cholinergique dans la maladie d'Alzheimer

### I. Le système cholinergique – Généralités

#### 1. L'acétylcholine

L'acétylcholine (ACh) est un des neurotransmetteurs majeurs du système nerveux central. Sa synthèse s'effectue au niveau cytoplasmique des terminaisons pré-synaptiques des neurones, à partir de la choline et de l'acétyl coenzyme A *via* l'action de l'enzyme Choline acétyl-transférase (ChAT) (Fig. 15). L'ACh intervient dans un très grand nombre de fonctions cérébrales telles que le développement, le contrôle du flux sanguin cérébral, les cycles de veille-sommeil, mais également au niveau des processus cognitifs et mnésiques (Schliebs et Arendt, 2006). D'un point de vue mécanistique, l'ACh exerce ses effets par sa libération des vésicules synaptiques au sein de la fente synaptique, après activation du neurone. Une fois libérée, l'ACh va pouvoir se fixer sur ses récepteurs au niveau post-synaptique, puis sera dégradée par hydrolyse *via* l'action de l'acétylcholinestérase (AChE), générant de la choline, qui sera recapturée au niveau pré-synaptique et réutilisée pour la synthèse d'une nouvelle molécule d'ACh, et de l'acide acétique.



**Fig. 15 : Schéma représentatif de la synthèse d'ACh à partir de la choline et de l'acétyl-CoA et de sa dégradation par l'AChE ainsi que de sa recapture au niveau synaptique (D'après Neurosciences, Purves 4<sup>ème</sup> édition)**

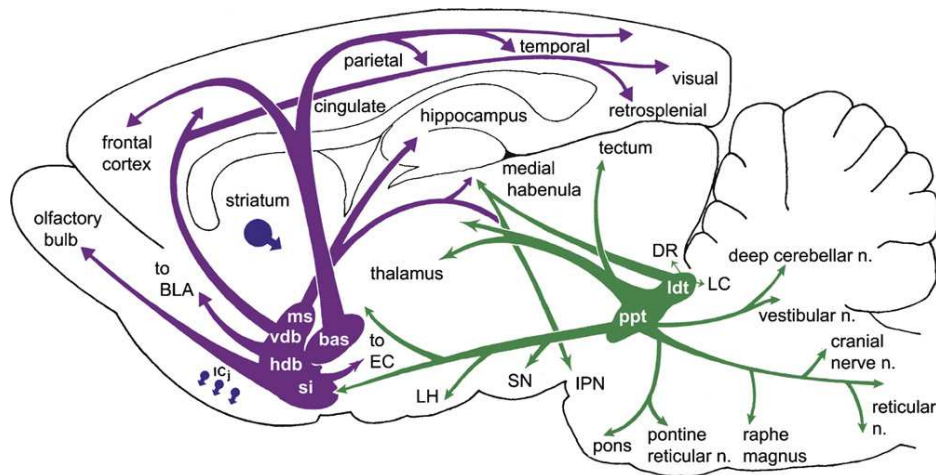
## 2. Les neurones cholinergiques

Il existe deux sources principales d'ACh, provenant d'une part, des projections neuronales innervant les aires distales du cerveau, et d'autre part, des interneurons locaux (au niveau striatal) qui sont intercalés parmi leurs cibles cellulaires (Picciotto et al., 2012). Par ailleurs, l'anatomie du système cholinergique est relativement conservée au sein des mammifères et présente de nombreuses analogies entre les rongeurs, le singe et l'Homme (Mesulam et al., 1983).

L'ACh provient de différents types de neurones cholinergiques qui se distinguent par leurs localisations anatomiques, leurs projections ainsi que leurs rôles fonctionnels. Ces populations de neurones cholinergiques proviennent du complexe basal antérieur, de la région pontomésencéphalique ou d'interneurones présents majoritairement au niveau du striatum (Woolf et al., 2011) (Fig.16).

Le complexe basal antérieur présente une forte population de neurones cholinergiques qui envoient des projections à la totalité du néocortex ainsi qu'à un grand nombre de structures limbiques (Fig. 16). Cette région peut être divisée en 3 régions différentes : (1) les neurones cholinergiques présents au niveau du SM et du bras vertical de la bande diagonale de Broca (vBDB) qui projettent vers l'HPC, incluant le CA1 et le GD, formant boucle septo-hippocampique (Wainer et al., 1985 ; Woolf et al., 1984) ; (2) la région du bras horizontal de la bande diagonale de Broca (hBDB) et du noyau magnocellulaire, dont les neurones innervent entre autre l'amygdale, les cortex entorhinal et cingulaire ainsi que certaines parties du CPF (Saper et al., 1984 ; Nagai et al., 1982) ; (3) la région composée du noyau basal de Meynert projetant sur toute les parties du néocortex (Bigl et al., 1982).

Les neurones cholinergiques de la région pontomésencéphalique sont localisés au niveau du noyau tegmental dorsolatéral et du noyau tegmental pédonculopontin. Ces neurones innervent la moelle épinière, le thalamus, le complexe basal antérieur ainsi que le CPFm (Rye et al., 1984 ; Woolf et Butcher, 1986).



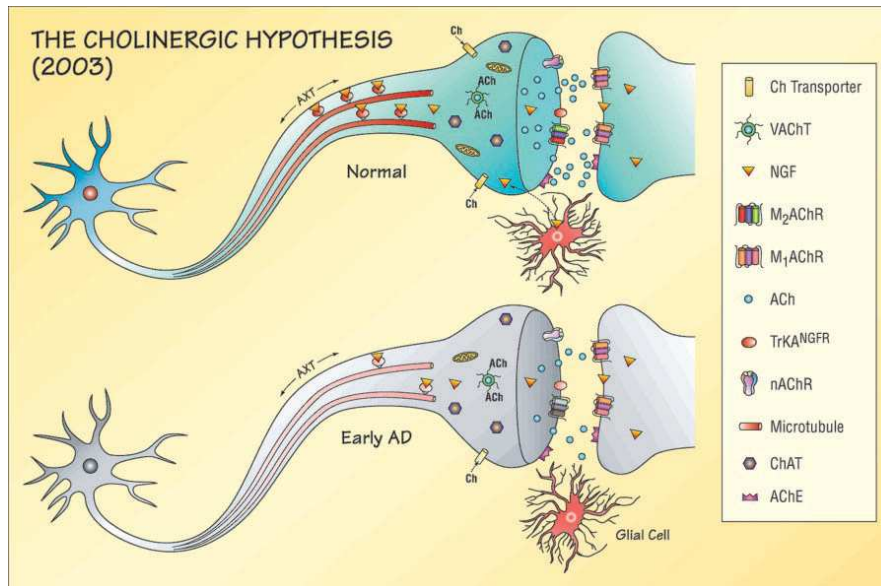
**Fig. 16 : Représentation schématique des principales voies cholinergiques chez le rongeur (d'après Woolf et al., 2011).** SM : Septum Médian ; VDB : Bras vertical de la bande diagonale de Broca ; HDB : bras horizontal de la bande diagonale de Broca ; bas : Noyau basal magnocellulaire ; ppt : Noyau tegmental pédonculo-pontin ; ldt : Noyau tegmental dorsolatéral

## II. L'hypothèse cholinergique

L'implication du système cholinergique central dans les processus d'apprentissage et de mémorisation a été suggérée par Deutsch en 1971 (Deutsch, 1971). Par ailleurs, le vieillissement se caractérise par une diminution des marqueurs cholinergiques centraux accompagnée d'un déclin mnésique, chez l'Homme comme chez l'animal. Ces observations ont mené à la formulation de l'hypothèse cholinergique du vieillissement mnésique qui suppose que le déclin cognitif et mnésique serait secondaire à la baisse de la transmission cholinergique centrale (Fig.17) (Bartus et al., 1985). Cette hypothèse repose essentiellement sur deux ensembles d'arguments principaux : d'une part, le déclin des marqueurs cholinergiques corrélé au déclin mnésique lors du vieillissement et d'autre part, des approches par intervention pharmacologique ou lésionnelle.

### 1. L'hypothèse cholinergique classique

Des altérations spécifiques des marqueurs cholinergiques (comme la ChAT) ont été retrouvées dans le cerveau de sujets souffrant de pertes de mémoire liées au vieillissement (Bowen et al., 1976 ; Whitehouse et al., 1982 ; Gill et al., 2007). De telles observations ont également été rapportées lors d'études effectuées sur des modèles animaux et plus particulièrement chez le rat âgé (Sherman et al., 1981 ; Wu et al., 1988), avec des résultats suggérant une diminution de l'activité des neurones cholinergiques septo-hippocampiques. De plus il a été démontré que l'intensité des pertes cholinergiques était corrélée au degré de perturbation cognitive des patients atteints de MA (Perry et al., 1978 ; DeKosky et al., 1992).



**Fig. 17 : Représentation schématique des modifications apparaissant au niveau des neurones cholinergiques au cours du vieillissement et des stades précoces de la MA (D'après Terry et Buccafusco, 2003).**

Des approches pharmacologiques et lésionnelles ont également corroboré ces données. En effet, la perturbation pharmacologique du système cholinergique par un antagoniste cholinergique (scopolamine) induit des déficits cognitifs chez le sujet jeune de manière semblable à ceux observés au cours du vieillissement (Drachman et Leavitt, 1974 ; Drachman et al., 1980 ; Sperling et al., 2002 ; Lindner et al., 2006 ; Blin et al., 2009). Ces observations ont également été confirmées par des études menées chez de jeunes singes ayant également reçu un traitement de scopolamine (Bartus et Johnson, 1976 ; Savage et al., 1996 ; Plakke et al., 2008). A l'inverse, l'augmentation de l'activité cholinergique centrale chez le sujet âgé, soit par augmentation de la biodisponibilité en précurseur de l'ACh dans l'alimentation (Cohen et Wurtman, 1975 ; Hirsch et Wurtman, 1978 ; Chung et al., 1995), soit par inhibition pharmacologique de l'AChE (Davis et al., 1978 ; Christensen et al., 1992 ; Marighetto et al., 2008) semble réduire les déficits cognitifs liés à l'âge.

En l'absence de toxines spécifiques des neurones cholinergiques, des lésions non sélectives ont pu produire des déficits mnésiques et cognitifs de différentes natures selon la voie cholinergique concernée. La lésion de la voie septo-hippocampique induit majoritairement des déficits mnésiques, alors que la lésion de la voie noyau basal magnocellulaire – néocorticale induit plutôt des déficits attentionnels (Hodges et al., 1991 ; Dunnett et Figibier, 1993 ; Everitt et Robbins, 1997). A l'inverse, la greffe de neurones cholinergiques fœtaux au sein de l'HPC ou du CPF, consécutive à une lésion du septum médian, restaure les performances de rats testés dans des épreuves de mémoire spatiale de

référence ou de travail en labyrinthe radiaire (Hodges et al., 1991). Enfin, la suppression des récepteurs nicotiniques de l'ACh  $\alpha 7$  ( $\alpha 7$ -nAChRs) par injection d'oligonucléotides antisens chez le rat provoque une perturbation des performances mnésiques en piscine de Morris (Curzon et al., 2006). A l'inverse, la stimulation pharmacologique sélective de ces récepteurs entraîne une amélioration des performances de mémoire de travail et de mémoire relationnelle chez des souris âgées testées en labyrinthe radiaire (Marighetto et al., 2008), ainsi qu'une amélioration des performances de mémoire de travail chez le singe âgé (Castner et al., 2010).

L'hypothèse cholinergique est à l'origine du développement de traitements procholinergiques visant à réduire les effets du vieillissement sur la mémoire. De nombreux composés (inhibiteur d'AChE) ont été synthétisés tels que la tacrine, la rivastigmine, la galantamine ou le donépézil (Pepeu et Giovannini, 2009, 2010). Cependant, le développement d'approches lésionnelles spécifiques des neurones cholinergiques a fait naître une controverse quant à l'implication de ce système dans les phénomènes d'apprentissage et de mémorisation.

Le rôle du système cholinergique dans les processus d'apprentissage et de mémoire, ainsi que son rôle dans les déficits mnésiques liés au vieillissement ont été remis en question après la publication d'études démontrant que des lésions de ce système ne s'accompagnaient pas ou peu de déficits mnésiques. En effet, des travaux ont rapporté qu'une perte quasi-totale des neurones cholinergiques du complexe basal antérieur consécutive à une lésion iboténique, induit une chute drastique du taux d'ACh, mais ne perturbe pas les performances des rats testés dans une tâche de labyrinthe radiaire (Wenk et Engisch, 1986). Par ailleurs, le développement de la technique de lésion immunotoxique *via* l'utilisation de l'<sup>192</sup>IgG couplée à la saporine (Schliebs et al., 1996) qui induit une destruction sélective des neurones cholinergiques alimente cette controverse. En effet, l'injection de cette toxine au niveau septal produit une diminution des taux d'ACh (Chang et Gold, 2004), mais n'altère pas ou peu la mémoire spatiale de référence en piscine de Morris ou en labyrinthe radiaire chez le rat (Torres et al., 1994 ; Baxter et al., 1995 ; Baxter et al., 1996 ; Baxter et Gallagher, 1996). Certaines études rapportent même, suite à une lésion du SM et du noyau basal magnocellulaire une facilitation de l'utilisation d'une mémoire spatiale (hippocampo-dépendante) (Cahill et Baxter, 2001 ; Bizon et al., 2003).

## **2. L'hypothèse cholinergique reformulée**

Pour tenter de dépasser ces contradictions concernant le rôle de l'ACh dans la mémoire, des modifications de l'hypothèse cholinergique « classique » ont été apportées conduisant à une reformulation de cette hypothèse. Selon celle-ci, les voies cholinergiques ne

seraient plus essentielles à la mémorisation, mais elles moduleraient l'activité de leurs structures cibles, qui se trouvent être les structures essentielles des différents systèmes de mémoire. Précisément, le niveau d'ACh libéré au sein d'une structure déterminerait le degré d'implication de cette structure dans les processus mnésiques en cours. De ce fait, l'ACh coordonnerait le recrutement de différents systèmes de façon adaptée à la tâche et à la phase mnésique concernée ; elle déterminerait la configuration des activités cérébrales (au sein des systèmes mnésiques) spécifique de la tâche.

Cette reformulation postulant un rôle modulateur de l'ACh dans la coordination des systèmes de mémoire repose sur un certain nombre d'argument. En mesurant la libération d'ACh *in vivo* par microdialyse intracérébrale, ou *ex vivo* par mesure de la capture de la choline, différentes études ont mis en évidence des variations de l'activité cholinergique hippocampique dont la direction (augmentation ou diminution), et l'amplitude sont dépendantes de la tâche (mémoire de travail ou spatiale), de la phase de mémorisation (acquisition ou consolidation), du niveau d'entraînement, et/ou de la performance de l'animal (Raaijmakers, 1982 ; Decker et al., 1988 ; Marighetto et al., 1993). Ces observations ont conduit à la formulation de deux hypothèses principales. D'une part, une augmentation d'activité cholinergique sous-tendrait l'acquisition des informations, alors qu'une inhibition de cette activité serait nécessaire à la consolidation. Cette hypothèse, qui est cohérente avec le modèle de formation de trace mnésique en deux modes de fonctionnement hippocampique de Buzaki (Buzaki, 1989), a été reprise par Hasselmo (Hasselmo et Bower, 1993) et confirmée par des études pharmacologiques chez l'Homme (Gais et Born, 2004).

D'autre part, l'activité de la voie septo-hippocampique cholinergique déterminerait le degré de participation relative des systèmes de mémoire déclarative et non déclarative. Cette seconde hypothèse reprise par Gold, suggère que la quantité d'ACh libérée dans un système neuronal pourrait déterminer le niveau de contribution de ce système dans les processus d'apprentissage et de mémoire (Gols, 2003, 2004 ; Linstow Roloff et al., 2007). Une première expérience effectuée en labyrinthe en croix, dissociant apprentissage spatial (hippocampo-dépendant) et apprentissage stimulus-réponse (striato-dépendant), montre que les taux d'ACh libérés dans l'HPC et dans le striatum sont prédictifs de la stratégie utilisée par le rat (McIntyre et al., 2003). Une autre étude complète ces résultats en démontrant qu'au cours de l'apprentissage, les rats changent de stratégie (initialement spatiale, puis de type stimulus-réponse). Cette transition est reliée à des modifications du ratio d'ACh hippocampique et striatale (Chang et Gold, 2003). En effet, les résultats montrent une augmentation des quantités d'ACh dans l'HPC dès le début de l'apprentissage, qui se

maintient tout au long de la tâche. Dans le striatum, l'augmentation intervient plus tardivement et atteint un niveau asymptotique, ce qui coïncide avec la transition vers une stratégie de type stimulus-réponse. Par ailleurs, il a été démontré que l'amélioration des performances en labyrinthe radiaire est positivement corrélée à l'augmentation de la libération d'ACh durant les douze jours d'apprentissage de la tâche (Fadda et al., 2000).

L'hypothèse selon laquelle l'ACh jouerait un rôle modulateur dans la coordination des systèmes de mémoire permet de rendre compte des effets subtils des lésions cholinergiques sélectives. La perte cholinergique dans un système mnésique pourrait être compensée par une réorganisation fonctionnelle sollicitant d'avantage d'autres systèmes. Dans le cadre de cette hypothèse, la diminution de certaines populations neuronales cholinergiques pourrait jouer un rôle dans les altérations fonctionnelles complexes qui accompagnent le vieillissement normal et pathologique. Ce point de vue est conforté par des études d'imagerie fonctionnelle montrant des modifications induites par des traitements cholinergiques au niveau du CPF, des aires sensorielles et de l'HPC, sous forme de réduction ou d'augmentation d'activité selon la tâche et la région considérées (Freo et al., 2002 ; Freo et al., 2005 ; Dickerson et al., 2006).

### **III. Relations entre l'hypothèse amyloïde et l'hypothèse cholinergique**

L'ACh joue un rôle important dans la physiopathologie de la MA. En effet le niveau d'ACh libéré par les neurones cholinergiques diminue progressivement avec l'évolution de la maladie. Les analyses *post-mortem* des cerveaux de patients souffrant de MA ont montré une diminution de la recapture de la choline et de la libération d'ACh au niveau synaptique en corrélation avec une accumulation des plaques neuritiques. De plus la régulation du métabolisme des peptides A $\beta$  par les récepteurs muscariniques et nicotiniques d'une part, et le fait que le déficit cholinergique semble être secondaire aux effets toxiques des peptides A $\beta$  d'autre part, sont deux arguments majeurs en faveur d'une interaction entre la fonction cholinergique et les peptides amyloïdes (Pakaski et Kalman, 2008 ; Tata et al., 2014).

#### **1. Impacts des peptides A $\beta$ sur la synthèse et la dégradation de l'ACh**

De nombreuses étapes de la synthèse d'ACh semblent perturbées par la présence de formes solubles d'A $\beta$ , ce qui a conduit à l'idée que les A $\beta$  contribuaient à la vulnérabilité sélective de certaines populations de neurones cholinergiques dans le cadre de la MA (Auld et al., 1998). Concernant la toxicité des peptides A $\beta$  sur les cellules cholinergiques, des études



immunohistochimiques ont démontré que l'application d'A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> ou d'A $\beta$ <sub>(1-40)</sub> induisait une altération de l'activité ChAT au sein des neurones du SM (Harkany et al., 1995 a,b). Par ailleurs, la lignée de souris transgénique (APP23) porteuse d'une mutation sur le gène APP, présente une perte des neurones cholinergiques au niveau du néocortex, sans atteinte du complexe basal antérieur, ce qui suggère que le déficit cholinergique chez ces souris est localement induit par la présence de dépôts amyloïdes et non par une perte de neurones cholinergiques du complexe basal antérieur (Boncristiano et al., 2002).

D'autres études se sont intéressées à l'impact des peptides A $\beta$  sur la dégradation de l'ACh en étudiant notamment l'activité de l'AChE. Cependant les effets *in vitro* et *in vivo* des A $\beta$  sur l'activité de cette enzyme restent soumis à controverse. En effet, alors que l'application d'A $\beta$ <sub>(1-40)</sub> ou d'A $\beta$ <sub>(25-35)</sub> entraîne une augmentation de l'activité AChE dans des cellules de carcinome embryonnaire P19 (Sberna et al., 1997) et sur des cultures de neuroblastomes (Hu et al., 2003), l'injection d'A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> au niveau du noyau basal magnocellulaire ou du SM chez le rat diminue de façon significative l'activité de l'AChE (Harkany et al., 1995 a,b). Cependant, ces données sont contradictoires avec des études effectuées *in vivo* sur un modèle murin transgénique de surproduction d'A $\beta$ , induisant une augmentation des niveaux d'AChE cérébraux (Sberna et al., 1998). Par ailleurs, d'autres études rapportent que l'AChE est capable d'accélérer la formation d'A $\beta$  fibrillaire et de former un complexe AChE-A $\beta$  (Inestrosa et al., 1996 ; Hoshi et al., 1997). Toutes ces données expérimentales ont conduit à l'apparition de stratégies thérapeutiques de la MA basées sur l'utilisation d'inhibiteur d'AChE pour leurs capacités à restaurer la balance cholinergique et à inhiber la formation des dépôts amyloïdes. En effet, en plus de son rôle catalytique dans la réaction d'hydrolyse de l'ACh au sein des neurones cholinergiques, cette enzyme est responsable de nombreuses autres activités non-catalytiques telles qu'une activité pro-agrégatrice des peptides A $\beta$  (Greig et al., 2005). De plus, il a également été démontré que les inhibiteurs d'AChE permettaient d'améliorer la libération de dérivés solubles non-amyloïdogéniques de l'APP *in vitro* et *in vivo*, et de ralentir la formation de composés amyloïdogéniques dans le cerveau (Galdeano et al., 2012).

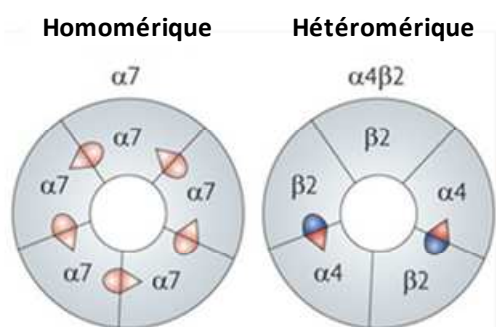
Cependant, bien que les études pré-cliniques semblent indiquer un réel intérêt thérapeutique des inhibiteurs d'AChE, les essais cliniques n'ont pas été réellement concluants. En effet, la première molécule inhibitrice de l'AChE développée, la tacrine, en dépit de ses résultats encourageants d'un point de vue cognitif, a démontré une forte toxicité hépatique la rendant inutilisable. Des molécules de deuxième génération qui ont par la suite été développées, telles que le donépézil, la rivastigmine et la galantamine, présentent des effets

secondaires modérés (Cummings, 2004) mais ont une efficacité cognitive qui n'est pas pleinement satisfaisante. Cependant, certaines études ont démontré un effet bénéfique de ces molécules concernant les troubles cognitifs, mnésiques et comportementaux, permettant au sujet de ralentir sa perte d'autonomie (Courtney et al., 2004). Malheureusement, ces effets bénéfiques ont été observés chez des patients atteints de démences légères et semblent avoir une durée limitée de 6 à 12 mois.

## 2. Implication des récepteurs nicotiniques dans la MA

### A. Généralités sur les récepteurs nicotiniques

Les récepteurs nicotiniques (nAChRs) appartiennent à la famille des canaux ioniques spécifiques d'un ligand, au même titre que les récepteurs GABAergiques de type A et sérotoninergiques (Role et Berg, 1996 ; Jones et al., 1999 ; Dani, 2001). Ils sont composés



**Fig. 18 : Représentation schématique des récepteurs nicotiniques homo et hétéropentamériques (D'après Changeux, 2010).** Le récepteur  $\alpha 7$  homopentamérique présente 5 sites de liaison à l'ACh, alors que seulement 2 sont présents entre les sous-unités  $\alpha 4$  et  $\beta 2$  au niveau du récepteur hétéropentamérique  $\alpha 4\beta 2$ .

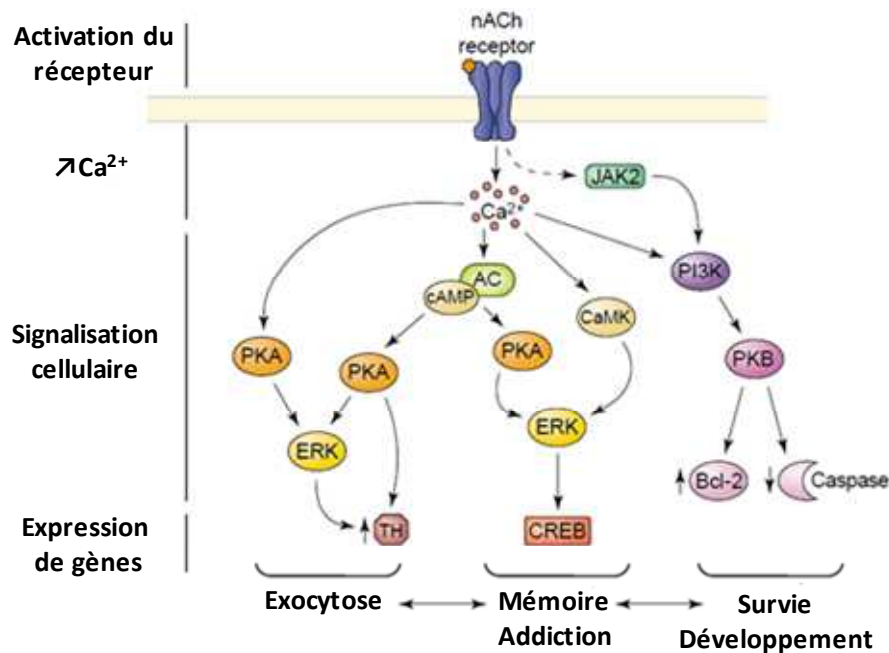
de 4 domaines transmembranaires. Les récepteurs nicotiniques neuronaux sont assemblés à partir de 5 sous-unités organisées autour d'un pore central permettant les échanges ioniques (Cooper et al., 1991). Les récepteurs nAChRs peuvent être hétéropentamériques composés d'une combinaison de sous-unités  $\alpha$  et  $\beta$  présentant une stoechiométrie de 2:3 ou homopentamériques (composés de 5 sous-unités  $\alpha$ ) (Fig. 18).

Au niveau cérébral, il existe 9 sous-unités  $\alpha$  ( $\alpha 2$  à  $\alpha 10$ ) et 3 sous-unités  $\beta$  ( $\beta 2$  à  $\beta 4$ ). Les sous-unités  $\alpha 7$ ,  $\alpha 8$  et  $\alpha 9$  sont les seules à pouvoir former un

récepteur homopentamérique, mais seuls les

récepteurs  $\alpha 7$  et  $\alpha 4\beta 2$  sont largement exprimés dans le système nerveux central des mammifères (Dani et Bertrand, 2007). D'un point de vue mécanistique, la fixation de l'ACh sur les récepteurs nAChRs (deux sites de fixation entre les sous-unités  $\alpha$  et  $\beta$  pour les récepteurs hétéropentamériques et cinq pour les récepteurs homopentamériques) entraîne un changement de conformation du récepteur, provoquant l'ouverture du canal durant quelques millisecondes. Le canal alors ouvert, se referme et retourne à un état de repos, ou passe par un état de désensibilisation, lorsque la stimulation est prolongée, au cours duquel il ne réagit plus à l'ACh ou à d'autres agonistes (Dani, 2001). Lorsqu'ils sont ouverts, les nAChRs permettent le passage de cations ( $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ), qui provoquent une dépolarisation locale et

entraînent l'activation de différentes cascades moléculaires impliquées notamment, dans la mémoire, le développement et la survie cellulaire (pour revue Gotti et al., 2006) (Fig. 19).

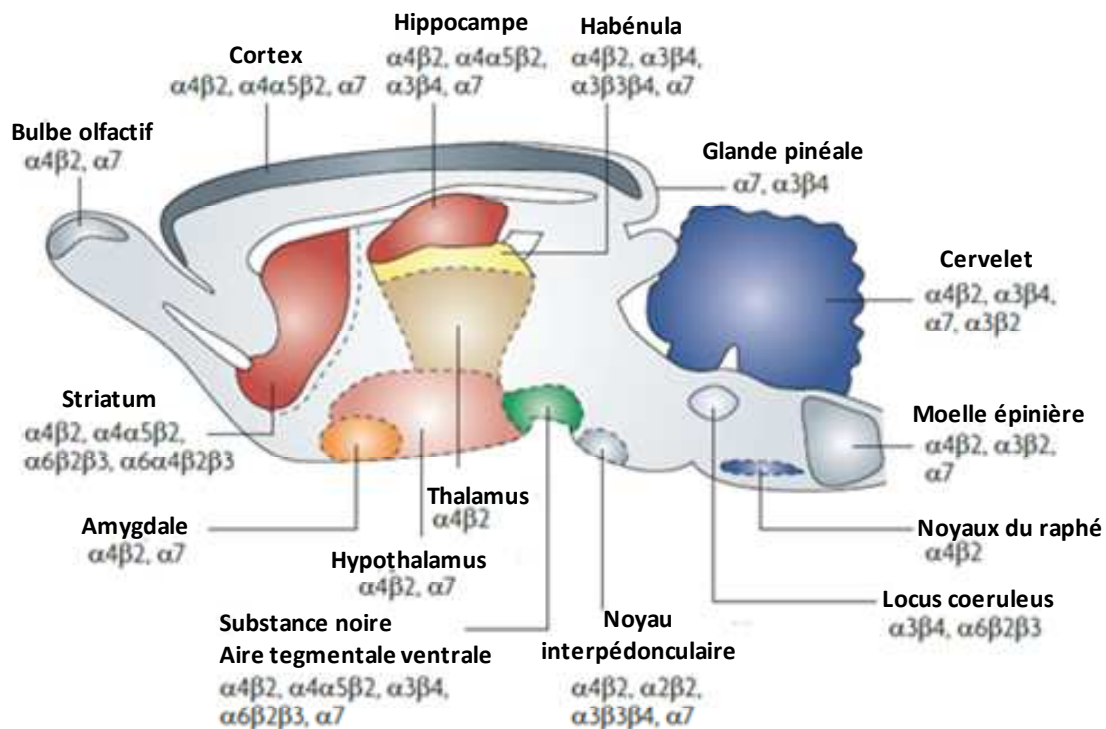


**Fig. 19 : Voies de signalisations intracellulaires activées par les récepteurs nAChRs (D'après Dajas-Bailador et Wonnacott, 2004).** L'activation des récepteurs nAChRs entraîne l'augmentation de  $\text{Ca}^{2+}$  cytosolique et déclenche l'activation de différentes cascades moléculaires essentielles aux processus mnésiques.

## B. Les récepteurs nAChRs dans la MA

L'altération de l'activité des nAChRs a été démontrée depuis de nombreuses années dans différentes pathologies du système nerveux central, et l'intérêt pharmaceutique de ces récepteurs apparaît comme une approche prometteuse pour le diagnostic précoce de la MA (Taly et al., 2009). En effet, en relation avec l'hypothèse cholinergique du vieillissement, il est apparu qu'au niveau du cortex, il existait une réduction massive de l'expression des récepteurs nAChRs au cours de l'évolution de la MA, impliquant de manière prépondérante le sous type  $\alpha 4\beta 2$  et épargnant le sous-type  $\alpha 7$  (Bourin et al., 2003). A l'inverse au niveau hippocampique, une perte de l'expression des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs semble être prédominante et corrélée avec la progression de la perte des fonctions cognitives au cours de la MA (Nordberg et al., 1997 ; Guan et al., 2000 ; Burghaus et al., 2000). De plus, bien que la majorité des récepteurs nAChRs soit largement distribuée dans le cerveau (Fig. 20), il apparaît que les sous-types de récepteurs formés des sous-unités  $\alpha 7$  (sous-forme homo- ou hétéropentamérique) ou ceux formés d'un assemblage de sous-unités  $\alpha$  et  $\beta$  (tels que les récepteurs  $\alpha 4\beta 2$  et  $\alpha 3\beta 4$ ) représentent les sous-types de récepteur fonctionnels majoritairement exprimés au niveau cérébral (pour revue Colombo et al., 2013). En revanche,

les sous-unités  $\alpha 2$ ,  $\alpha 5$ ,  $\alpha 6$  et  $\beta 3$  représentent une population minoritaire des récepteurs nAChRs bien qu'elles soient également présentes dans la grande majorité des structures cérébrales (Dineley et al., 2015).



**Fig. 20 : Distribution des différents sous-types de récepteurs nAChRs au niveau cérébral (D'après Taly et al., 2009).** Les récepteurs nAChRs sont présents dans la majorité des structures cérébrales. Les récepteurs  $\alpha 7$  et  $\alpha 4\beta 2$  sont les sous-types les plus fortement exprimés dans le cerveau.

Du fait de ces observations, les principales investigations concernant le rôle des récepteurs nAChRs dans la MA ont été réalisées sur les récepteurs  $\alpha 4\beta 2$  et  $\alpha 7$ . Cependant, il semble que le récepteur  $\alpha 7$ -nAChR présente une sensibilité plus importante vis-à-vis des peptides A $\beta$  (Buckingham et al., 2009). De ce fait nous nous concentrerons sur le rôle joué par les  $\alpha 7$ -nAChRs dans les mécanismes sous-tendus par les peptides A $\beta$  au cours du développement de la MA.

### 3. Les récepteurs $\alpha 7$ -nAChRs

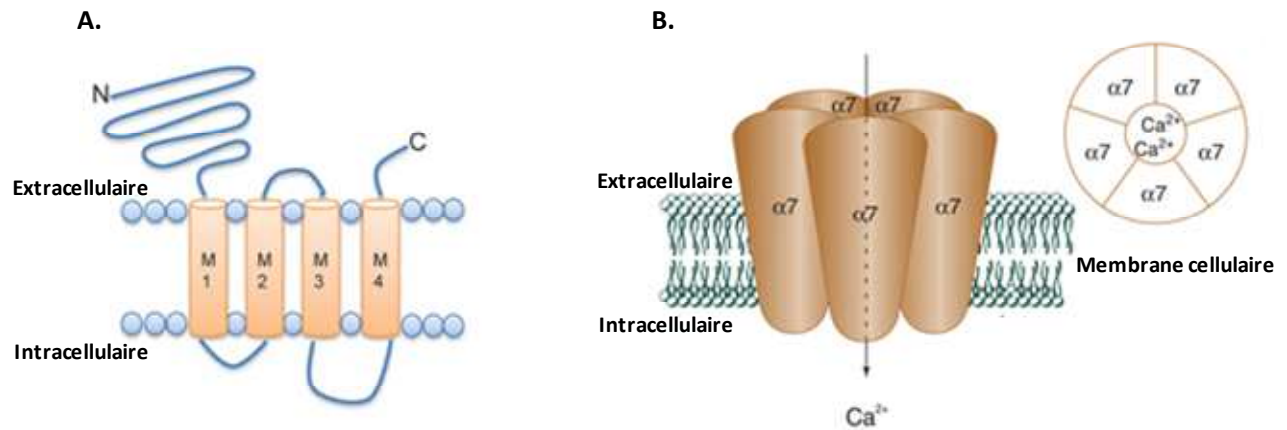
#### A. Structure, localisation et fonction du récepteur $\alpha 7$ -nAChR

La sous-unité  $\alpha 7$ , identifiée pour la première fois chez le poulet, est codée par le gène CHRNA7 localisé sur le chromosome 15 (Yu et Role, 1998). Son organisation

structurale diffère significativement des autres gènes, codant pour les autres sous-unités de récepteurs nicotiques, de par son nombre différent d'introns et de site d'épissage (Hurst et al., 2014). Structurellement, cette sous-unité est considérée comme étant la plus proche du gène ancestral qui a évolué au cours des derniers millions d'années, et semble avoir des fonctions spécifiques préservées comme une forte perméabilité au calcium ainsi qu'une certaine sensibilité à certaines toxines. Chaque sous-unité  $\alpha 7$  est une protéine composée de 4 segments transmembranaires (M1-M4) (Fig. 21A), d'une terminaison N-terminale extracellulaire contenant le site de fixation de l'agoniste. Ce site de fixation contient une paire de cystéine qui est nécessaire à la liaison de l'agoniste. La boucle intracellulaire comprise entre les segments M3 et M4 contient des sites de phosphorylation permettant la régulation du récepteur. L'agencement des segments M2 des 5 sous-unités  $\alpha 7$  permet la formation d'un pore cationique sélectif des cations monovalents et du calcium (Fig. 21B).

Cependant, il est important de noter que la perméabilité calcique (qui diffère fortement entre les différents sous-type de récepteurs nicotiques) est médiée dans la sous-unité  $\alpha 7$  par deux acides aminés positionnés de part et d'autre du domaine M2 du canal ionique (Bertrand et al., 1993). De plus, les études des relations entre structure et fonction du récepteur  $\alpha 7$ -nAChR ont démontré que la sélectivité cationique de ce récepteur provenait de 3 acides aminés situés à l'intérieur du domaine M2 du canal ionique (Galzi et al., 1992). En effet, la substitution de ces acides aminés est suffisante pour convertir ce canal cationique en canal anionique.

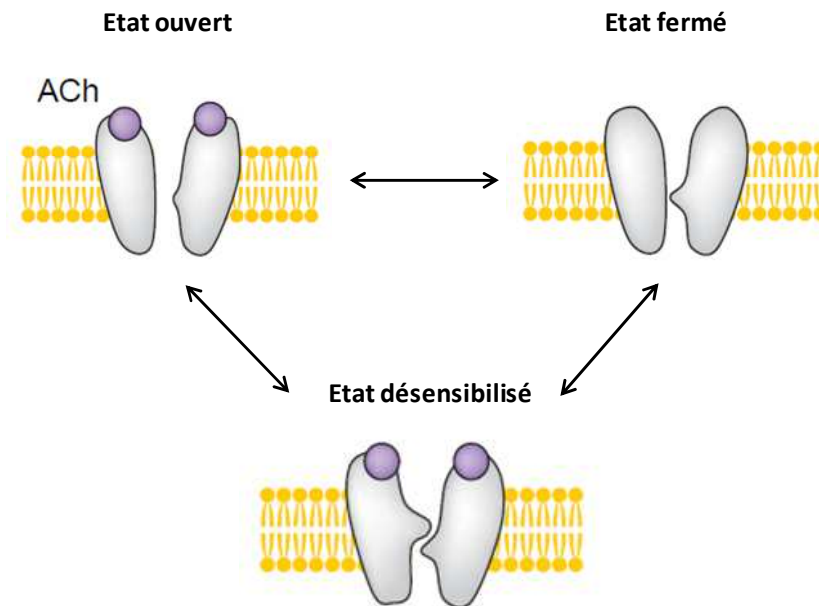
Du fait de leur présence majoritaire au niveau de l'HPC et du CPF, les récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs sont impliqués dans un grand nombre de processus cognitifs et mnésiques. Au niveau neuronal, les  $\alpha 7$ -nAChRs sont localisés majoritairement au niveau pré-synaptique mais leur présence au niveau post-synaptique a également été observée (Jones et Wonnacott, 2004).



**Fig. 21 : Représentation schématique de l'organisation des sous-unités du récepteur  $\alpha 7$ -nAChR (A.) et du pore cationique (B.) (d'après A. Hendrickson et al., 2013 et B. Davis et de Fiebre, 2006).** Chaque sous-unité  $\alpha 7$  est composée de 4 domaines transmembranaires. L'assemblage des 5 sous-unités  $\alpha 7$  forment le récepteur  $\alpha 7$  constitué d'un pore cationique central très perméable au  $\text{Ca}^{2+}$ .

D'un point de vue fonctionnel, le récepteur  $\alpha 7$ -nAChR existe selon trois états différents (Fig. 22) : fermé, ouvert ou désensibilisé (Taly et al., 2009). Lorsque le canal est dans l'état fermé (ou état de repos), le ligand peut se fixer au récepteur mais le canal n'assure pas le passage ionique. L'ouverture du canal requiert la fixation de l'agoniste sur le récepteur qui induit ainsi un flux cationique à travers le canal. Cependant, une application prolongée d'un agoniste des  $\alpha 7$ -nAChRs induit la fermeture du canal ionique (alors que l'agoniste est toujours fixé au récepteur), ce qui correspond à l'état désensibilisé (Giniatullin et al., 2005 ; Yakel et al., 2013). Le récepteur  $\alpha 7$ -nAChRs est caractérisé par une désensibilisation rapide consécutive à la liaison d'un agoniste (Quick et Lester, 2002), ce qui le rend temporairement inactif à la fixation ultérieure d'un autre agoniste. Ce phénomène de désensibilisation est un système sophistiqué permettant le contrôle de la transmission cholinergique, de la plasticité synaptique et la prévention de la mort cellulaire liée à l'excitotoxicité calcique (Giniatullin et al., 2005).

En plus de pouvoir s'associer avec 4 autres sous-unités  $\alpha 7$  pour former un récepteur  $\alpha 7$ -nAChR homopentamérique, la sous-unité  $\alpha 7$  peut également s'associer avec la sous-unité  $\beta 2$  afin de former un récepteur  $\alpha 7\beta 2$  fonctionnel retrouvé au niveau du complexe basal antérieur chez l'Homme et la souris (Liu et al., 2009 ; Moretti et al., 2014). En revanche, la présence de ces récepteurs au niveau de l'HPC chez la souris est controversée (Liu et al., 2012 ; Moretti et al., 2014).



**Fig. 22 : Différents états du récepteur  $\alpha 7$ -nAChRs.** La fixation de l'ACh induit l'ouverture du canal qui lorsque l'exposition est prolongée conduit à son inactivation (état désensibilisé). Lorsque l'agoniste n'est pas fixé au récepteur, celui-ci est dans un état fermé (ou de repos) (adapté de Giniatullin et al., 2005).

#### *a. $\alpha 7$ -nAChRs et perméabilité calcique*

L'une des principales caractéristiques du récepteur  $\alpha 7$ -nAChR est sa perméabilité élevée au  $\text{Ca}^{2+}$  en comparaison avec les autres cations. Cette caractéristique est très importante au regard de son potentiel pour améliorer les performances cognitives, du fait de la forte implication du calcium dans le déclenchement de voie de signalisation intracellulaire ainsi que dans les processus de plasticité synaptique (Kandel, 1981). Le récepteur  $\alpha 7$ -nAChR est 20 fois plus perméable au calcium qu'au sodium ( $P_{\text{Ca}^{2+}}/P_{\text{Na}^{+}} = 20$ ) ce qui est largement supérieur aux autres sous-types de récepteurs nicotiniques ou aux récepteurs NMDA qui ont un ratio d'environ 5 (Seguela et al., 1993).

#### *b. $\alpha 7$ -nAChRs et transmission glutamatergique*

L'activation des  $\alpha 7$ -nAChRs est impliquée dans la transmission synaptique rapide, ainsi que dans la libération de neurotransmetteurs et la plasticité synaptique (Wallace et Porter, 2011 ; Koukouli et Maskos, 2015). En effet, l'activation des  $\alpha 7$ -nAChRs au niveau pré-synaptique s'accompagne d'une augmentation de l'influx calcique pré-synaptique (Dajas-Bailadore et Wonnacott, 2004) induisant une dépolarisation membranaire et permettant une augmentation de la libération de glutamate, notamment au niveau des synapses cortico-limbiques (Mansvelder et al., 2009) et hippocampique (Cheng et Yakel, 2015). De plus, les  $\alpha 7$ -nAChRs modulent l'expression des récepteurs glutamatergiques NMDA au niveau pré-synaptique. Des études réalisées sur des cultures de neurones corticaux ont montré que

l'inactivation chronique des  $\alpha 7$ -nAChRs augmente l'expression des récepteurs NMDA au niveau de la surface cellulaire (Lin et al., 2010). L'activation aigue des  $\alpha 7$ -nAChRs pré-synaptiques améliorent la transmission glutamatergique des fibres mousses de l'HPC selon un mécanisme dépendant de l'activation de la PKA (Cheng et al., 2014).

### **B. $\alpha 7$ -nAChRs et plasticité synaptique**

La plasticité synaptique (correspondant à un changement de l'efficacité synaptique entre les neurones) est considérée comme un corrélat cellulaire de l'apprentissage et de la mémoire (Martin et al., 2000 ; Malenka et Nicoll, 1999 ; Whitlock et al., 2006). Les récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs jouent également un rôle dans la plasticité synaptique ainsi que dans les processus d'apprentissage, de mémoire et notamment dans la mémoire de travail (Malenka et Bear, 2004). En effet, une étude *in vitro* a montré que la stimulation de la région cholinergique septale induisait une PLT au niveau du CA1 via l'activation des  $\alpha 7$ -nAChRs (Gu et Yakel, 2011), confirmant ainsi des études plus anciennes suggérant que les  $\alpha 7$ -nAChRs étaient capables d'induire une PLT dans l'HPC (Hunter et al., 1994 ; Mann et Greenfield, 2003). La PLT peut également être induite via l'utilisation d'un agoniste des  $\alpha 7$ -nAChRs sur des cellules d'HPC de rats ou de souris qui ne présentent pas de récepteurs  $\alpha 7$  ( $\alpha 7$  KO) (Biton et al., 2007). De plus, la PLT est améliorée dans le GD consécutivement à une administration de nicotine et peut-être abolie après un traitement par un antagoniste spécifique des  $\alpha 7$ -nAChRs (Welsby et al., 2006).

L'expression des  $\alpha 7$ -nAChRs est également abondante au niveau post-synaptique sur les interneurones GABAergiques de l'HPC et du cortex, où ils modulent la circuiterie neuronale impliquée dans les fonctions cognitives, en jouant sur l'inhibition ou la levée d'inhibition de la transmission glutamatergique (Alkondon et al., 1999 ; Alkondon et al., 2000 ; Fabian-Fine et al., 2001). Ainsi, les effets de l'activation des  $\alpha 7$ -nAChRs sur la plasticité synaptique hippocampique s'effectuent directement via l'activation d'interneurones inhibiteurs GABAergiques qui permettent de diminuer l'activation des cellules pyramidales. Cependant, lors d'une combinaison cellulaire interneurone – interneurone – cellule pyramidale, l'activation des  $\alpha 7$ -nAChRs du premier interneurone inhibe le second qui en conséquent annule l'inhibition de la cellule pyramidale et augmente ainsi son activité (Ji et Dani, 2002).

### **C. $\alpha 7$ -nAChRs et mémoire**

Il est maintenant bien établi que les  $\alpha 7$ -nAChRs jouent un rôle central dans de nombreux processus mnésiques dont la mémoire de travail. En effet, le blocage des récepteurs



$\alpha 7$ -nAChRs perturbe, alors que la nicotine améliore la mémoire à court et long terme chez le rat (Marti Barros et al., 2004). Le blocage de ces récepteurs au niveau de l'HPC par un antagoniste (mecamylamine), entraîne une perturbation des performances de mémoire de travail tout en préservant la mémoire de référence chez le rat (Ohno et al., 1993), alors que ces déficits de mémoire de travail consécutifs à une dénervation cholinergique de l'HPC sont prévenus par un traitement nicotinique (Grigoryan et al., 1994). De plus, un traitement à la nicotine, aigu aussi bien que chronique, améliore les performances en mémoire de travail (Rezvani et Levin, 2001 ; Levin et Simon, 1998). Par ailleurs, des expériences menées sur des souris KO- $\alpha 7$  (Orr-Urtreger et al., 1997) ont démontré que ces animaux présentaient des déficits d'apprentissage dans le labyrinthe radiaire (Levin et al., 2009 ; Young et al., 2011) ainsi que dans des procédures de mémoire de travail et de mémoire « épisodique-like » en piscine de Morris (Fernandes et al., 2006).

Comme nous venons de le voir, il apparaît que de manière générale, l'activation des  $\alpha 7$ -nAChRs par un agoniste améliore les performances mnésiques, et à l'inverse, une inhibition de ces récepteurs par un antagoniste perturbe ces mêmes fonctions mnésiques. Cependant, certaines études rapportent qu'à faibles doses, certains antagonistes  $\alpha 7$ -nAChRs présentent des effets similaires à un agoniste. En particulier, l'antagoniste MLA appliqué au niveau du CA1 hippocampique, induit une augmentation de la PLT de la même manière que la nicotine (Fujii et al., 2000). De plus, l'injection de faibles doses de mécamylamine augmentent des performances de mémoire de travail et de navigation spatiale chez le rongeur et le singe (Buccafusco et al., 1999). Une des explications possible de ce phénomène est que les antagonistes  $\alpha 7$ -nAChRs se fixent sur les interneurons inhibiteurs GABAergiques de l'HPC, induisant une diminution de la libération de GABA et par conséquent une levée d'inhibition des neurones glutamatergiques des cellules pyramidales améliorant ainsi la neurotransmission excitatrice et les performances mnésiques.

Au vue de l'importance des  $\alpha 7$ -nAChRs dans les processus mnésiques, l'implication de ces récepteurs, dans des pathologies induisant des troubles cognitifs et mnésiques telle que la MA, a par conséquent été largement étudiée.

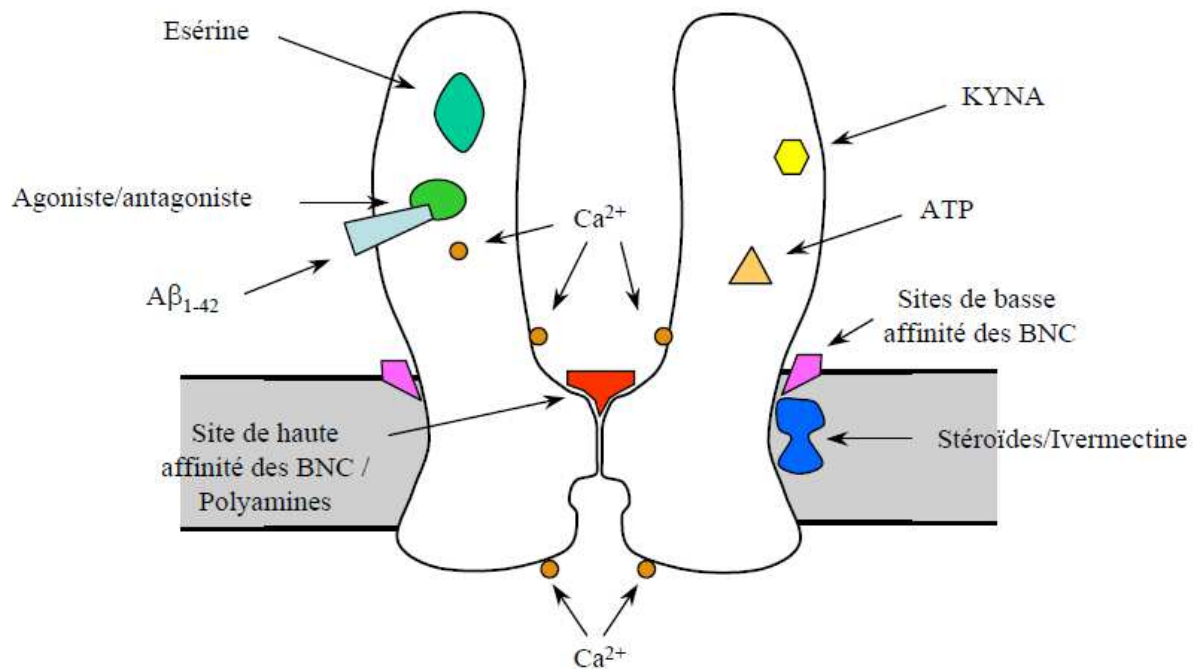
#### **4. Le récepteur $\alpha 7$ -nAChRs dans la MA**

L'étude *post mortem* de cerveaux de patients souffrant de MA a révélé que ceux-ci présentaient une diminution de l'expression des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs au niveau du néocortex, de l'HPC (Burghaus et al., 2000 ; Nordberg, 2001 ; Wevers et al., 1999), du noyau réticulaire du thalamus (Court et al., 2000) ainsi qu'au niveau des neurones du complexe basal

antérieur (Counts et al., 2007). En effet, il a été observé une diminution de 30% de l'expression des  $\alpha 7$ -nAChRs au niveau du cortex (Wevers et al., 1999) et de 36% au niveau de l'HPC (Guan et al., 2000). De plus, les neurones les plus vulnérables dans la MA semblent être les neurones exprimant fortement les  $\alpha 7$ -nAChRs (D'Andrea et Nagele, 2006). Enfin, les  $\alpha 7$ -nAChRs sont co-localisés avec les plaques séniles (Wang et al., 2000a) et positivement corrélés avec les neurones accumulant les peptides A $\beta$  (Wevers et al., 1999). Ces différentes observations ont donc conduit à étudier l'impact et les mécanismes d'action de l'interaction A $\beta$ / $\alpha 7$ -nAChRs au cours de l'évolution de la MA.

### A. L'interaction A $\beta$ / $\alpha 7$ -nAChRs

L'interaction entre le peptide A $\beta$  (et notamment la forme A $\beta_{(1-42)}$ ) et le récepteur  $\alpha 7$ -nAChRs a largement été démontrée. En effet, il a été observé que la sous-unité  $\alpha 7$  été co-localisée avec le peptide A $\beta_{(1-42)}$  provenant de plaques séniles de cerveaux de patients atteints de formes sporadiques de MA (Wang et al., 2000a, 2000b). L'utilisation de techniques d'immunoprécipitation et de Western blot a permis de montrer que le peptide A $\beta_{(1-42)}$  est capable d'immunoprécipiter la sous-unité  $\alpha 7$ , ce qui n'est pas le cas des autres sous-unités nicotiques. Des résultats similaires ont été obtenus en réalisant l'expérience inverse, démontrant que la sous-unité  $\alpha 7$  était capable d'immunoprécipiter le peptide A $\beta_{(1-42)}$ , laissant suggérer une forte interaction entre ces deux protéines. De plus, des études de compétition effectuées en incubant les récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs avec le peptide A $\beta_{(1-42)}$  et l' $\alpha$ -Bungarotoxine indiquent que l' $\alpha$ -Bungarotoxine diminue le niveau d'A $\beta_{(1-42)}$  fixé sur les  $\alpha 7$ -nAChRs, ce qui suggère que ces deux molécules se fixent sur le même site de liaison du récepteur (Wang et al., 2000b) (Fig. 23). Enfin, la même étude rapporte que le peptide A $\beta_{(1-42)}$  se fixe avec une plus grande affinité aux  $\alpha 7$ -nAChRs que la peptide A $\beta_{(1-40)}$  (Wang et al., 2000a). Ces observations ont été confirmées par des études effectuées sur des lignées de souris transgéniques APPSwe/PS1 (Soderman et al., 2008) et 3xTg-AD (Oddo et al., 2005) ainsi que *ex vivo* sur des tranches d'HPC de rat (Pettit et al., 2001). Cependant, dans l'étude de Pettit et collaborateurs, les A $\beta_{(1-42)}$  peuvent également se fixer sur d'autres sous-unités que les  $\alpha 7$ , ce qui a été confirmé par un grand nombre d'études notamment électrophysiologiques démontrant notamment une interaction du peptide A $\beta_{(1-42)}$  avec la sous-unité  $\beta 2$  (Lamb et al., 2005 ; Liu et al., 2009, 2012 ; Wu et al., 2004 ; Pandya et Yakel, 2011). Bien que l'interaction entre A $\beta_{(1-42)}$  et la sous-unité  $\beta 2$  soit prouvée et semble avoir un intérêt dans la MA, nous nous intéresserons en priorité aux conséquences des interactions entre les peptides A $\beta_{(1-42)}$  et les formes homopentamériques des  $\alpha 7$ -nAChRs.



**Fig. 23 : Différents sites pharmacologiques du récepteur  $\alpha 7$ -nAChR.** Le récepteur  $\alpha 7$ -nAChRs présente une multitude de sites de fixation pharmacologiques dont un site de fixation aux molécules agonistes et antagonistes ainsi qu'un site de fixation aux peptides amyloïdes  $A\beta_{(1-42)}$ .

### B. Conséquences fonctionnelles de l'interaction $A\beta_{(1-42)}/\alpha 7$ -nAChRs

Un grand nombre de résultats conflictuels dans la littérature ont été obtenus, concernant l'activation ou l'inhibition des  $\alpha 7$ -nAChRs par les peptides  $A\beta_{(1-42)}$  (pour revue : Hernandez et Dineley, 2012), ou concernant les effets bénéfiques ou délétères de cette interaction dans la MA (Oz et al., 2013). Cependant, la grande variabilité de résultats peut s'expliquer par les modèles d'étude utilisés, et plus important, par les types de préparation de peptide amyloïde utilisés (concentration, isoforme et niveau d'aggrégation) puisque comme nous l'avons vu dans la première partie il existe de fortes différences de toxicité entre les formes oligomériques et fibrillaires d' $A\beta$  (Selkoe, 2011).

#### a. Effets sur la régulation des $\alpha 7$ -nAChRs

Il a été démontré sur des cultures d'HPC de rat que l'application d' $A\beta_{(1-42)}$  induit un blocage des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs au niveau pré-synaptique et somato-dendritique alors que les récepteurs ne comprenant pas de sous-unité  $\alpha 7$  apparaissent insensibles aux  $A\beta_{(1-42)}$  (Liu et al., 2001). Ces résultats ont confirmé les observations montrant l'inhibition du courant cholinergique au niveau des neurones GABAergiques hippocampiques consécutivement à l'application d' $A\beta_{(1-42)}$  dans des concentrations de 100 nM (Pettit et al., 2001). Cependant, une étude effectuée sur un modèle différent a démontré une activation des  $\alpha 7$ -nAChRs, sur

des oocytes de *X. laevis* transfectés avec le récepteur  $\alpha 7$  humain, consécutivement à une application d'A $\beta_{(1-42)}$  oligomériques dans des concentrations allant de 1 à 100 pM alors qu'une plus forte concentration ainsi qu'une exposition prolongée induit une inhibition du récepteur probablement via un mécanisme de désensibilisation (Dineley et al., 2002). Cette étude est en accord avec les résultats indiquant une augmentation de l'influx calcique, dépendant des récepteurs  $\alpha 7$  et non- $\alpha 7$ -nAChRs, dans des neurones hippocampiques et corticaux à la suite de l'application d'une concentration pM d'A $\beta_{(1-42)}$  (Dougherty et al., 2003). Cependant, il est à noter que dans certaines de ces expériences, l'état d'agrégation du peptide A $\beta_{(1-42)}$  n'est pas précisé.

En conclusion, il apparaît que l'activation ou l'inhibition des  $\alpha 7$ -nAChRs par les A $\beta_{(1-42)}$  est dépendante du modèle d'étude ainsi que de la concentration et de l'état d'agrégation du peptide. Cependant, de manière générale, il semblerait qu'une exposition courte à faible concentration entraîne une activation du récepteur, alors qu'une longue exposition à forte concentration (ce qui est le cas dans la MA) induit son inhibition (Lombardo et Maskos, 2015).

#### ***b. Effets sur les voies de signalisation intracellulaires***

Au niveau de l'HPC, l'activation de la voie de signalisation intracellulaire ERK/MAPK est connue pour jouer un rôle important et la plasticité synaptique (Adams et Sweatt, 2002 ; Thomas et Huganir, 2004). Des études menées sur des cultures d'HPC rapportent qu'au niveau hippocampique, des concentrations physiologiques d'A $\beta_{(1-42)}$  oligomériques altèrent la voie de ERK/MAPK impliquées dans l'homéostasie cellulaire, la plasticité synaptique, l'apprentissage et les processus mnésiques. En effet, une exposition prolongée à de fortes doses d'oligomères d'A $\beta_{(1-42)}$  induit une dérégulation de l'activité ERK sur des cultures d'HPC, ce qui a été confirmé in vivo sur des souris Tg2576. De plus, sur des tranches d'HPC, il a été démontré que l'élévation extracellulaire des niveau d'A $\beta$  entraînait l'activation de la cascade ERK/MAPK et que cette activation était dépendante des  $\alpha 7$ -nAChRS (Dineley et al., 2001). Sur des cellules SH-SY5Y, une exposition aigue d'oligomères d'A $\beta_{(1-42)}$  de 1 à 100 nM induit l'activation/phosphorylation de ERK1/2, qui est ensuite inhibée par un antagoniste spécifique des  $\alpha 7$ -nAChRs (MLA) suggérant également que dans ce modèle cellulaire, l'activation de la voie ERK/MAPK par les A $\beta_{(1-42)}$  est dépendante des  $\alpha 7$ -nAChRs (Young et al., 2009). Cependant, l'activation de ERK a été observée suite à un traitement par un agoniste des  $\alpha 7$ -nAChRs, ce qui laisse suggérer que les A $\beta$  inhibent l'effet neuroprotecteur lié à l'activation de la voie ERK/MAPK par les  $\alpha 7$ -

nAChRs (Zhi et al., 2014). Comme précédemment, il existe des différences quant à l'activation ou l'inhibition de la voie ERK/MAPK consécutive à l'interaction  $A\beta_{(1-42)}/\alpha 7$ -nAChRs. Cependant, il a été postulé que ces interactions pouvaient avoir un rôle physiologique dans l'homéostasie cellulaire, qui serait perturbée lorsque la concentration en  $A\beta_{(1-42)}$  augmente dans un contexte pathologique, contribuant à l'inhibition des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs et à une toxicité cellulaire (Dineley et al., 2001 ; Parri et al., 2011).

### *c. Effets in vivo (KO- $\alpha 7$ et pharmacologie)*

Comme nous venons de le voir, la majorité des études visant à étudier les conséquences fonctionnelles de l'interaction  $A\beta/\alpha 7$ -nAChRs ont été menées *in vitro*. Cependant, des études menées sur des modèles transgéniques APP- $\alpha 7$ KO, présentant à la fois une surexpression de la protéine APP ainsi qu'une délétion pour le gène codant pour les  $\alpha 7$ -nAChRs ont montré des résultats contradictoires. En effet, ces animaux ne présentent pas de déficits de mémoire spatiale en comparaison avec des animaux ne surexprimant que la protéine APP à l'âge de 13 à 16 mois (Dziewczapolski et al., 2009). Ces observations ont conduit les auteurs à suggérer que l'absence des  $\alpha 7$ -nAChRs était suffisante pour empêcher l'accumulation de peptides amyloïdes et améliorer les performances cognitives. A l'inverse, une seconde étude menée sur des souris APP- $\alpha 7$ KO âgées de 5 mois, a montré que l'absence des  $\alpha 7$ -nAChRs potentialisait les déficits mnésiques observés en conditionnement contextuel et en reconnaissance d'objet, et augmentait les niveaux d' $A\beta$  au niveau hippocampique (Hernandez et al., 2010). Ces observations ont conduit les auteurs à suggérer que l'interaction  $A\beta/\alpha 7$ -nAChR induit une voie de signalisation impliquée dans la neuroprotection qui empêcherait ainsi l'agrégation des peptides amyloïdes.

Au niveau pharmacologique, de nombreuses études ont étudié les effets de traitements par un agoniste ou un antagoniste des  $\alpha 7$ -nAChRs dans le but d'interférer avec l'interaction  $A\beta/\alpha 7$ -nAChRs. Au niveau préclinique, l'action neuroprotectrice de ces molécules a largement été démontrée mais il subsiste de nombreuses interrogations, dues à la grande disparité de résultats obtenus, quand à l'utilisation d'une molécule agoniste ou antagoniste des  $\alpha 7$ -nAChRs. En effet, alors que le traitement par différents agonistes des  $\alpha 7$ -nAChRs sur des modèles transgéniques surexprimant l'APP a montré une restauration des performances mnésiques en mémoire spatiale de référence (Shim et al., 2008 ; Ren et al., 2007) mais également en mémoire de travail et épisodique (Inestrosa et al., 2013), ainsi qu'une amélioration de la PLT (Biton et al., 2006), certains auteurs ont observé une efficacité similaire à la suite d'un traitement par un antagoniste des  $\alpha 7$ -nAChRs. En effet, l'application

de MLA) sur des cultures d'HPC de rat et souris préalablement incubées avec des A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>, a démontré un effet neuroprotecteur sur la viabilité cellulaire (Martin et al., 2004). De plus, les études menées par Dziewczapolski et collaborateurs ont suggéré que puisque les  $\alpha 7$ -nAChRs subissent une désensibilisation rapide consécutive à la fixation d'un agoniste, l'administration d'un agoniste pur de ces récepteurs induirait un effet fonctionnel antagoniste (Dziewczapolski et al., 2009). Ces observations sont cohérentes avec l'adoption d'une stratégie basée sur l'administration d'antagonistes de ces récepteurs afin de prévenir les conséquences pathologiques de l'interaction A $\beta$ / $\alpha 7$ -nAChR (Deutsch et al., 2014)

Comme nous venons de le voir, l'interaction entre les peptides A $\beta$  et les récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs a suscité un grand nombre d'études. Cependant, du fait de la complexité de ces interactions, de la grande variété de modèles utilisés, et des différentes conformations de peptides A $\beta$  étudiées, de nombreux résultats contradictoires ont été observés dans la littérature. Il apparaît néanmoins que ces interactions semblent jouer un rôle important dans la physiopathologie de la MA, et que ces différentes études fournissent des bases solides dans le but de poursuivre les investigations visant à comprendre ces mécanismes.



## Objectifs de l'étude

Comme nous venons de le voir lors de cette introduction générale, la MA est une pathologie d'origine multifactorielle, qui se caractérise par une symptomatologie variée, tant sur le plan cognitif, mnésique, cellulaire que moléculaire, suivant une progression lente et insidieuse (*Cf: Partie I*). Cependant, de nombreuses avancées ont suggéré une atteinte cérébrale hiérarchisée, coïncidant avec l'apparition des troubles cognitifs et mnésiques, ainsi qu'un rôle important joué par les formes oligomériques et solubles des peptides A $\beta$  dans l'étiopathologie de la maladie (Mucke et Selkoe, 2012). De plus, la présence de déficits de mémoire épisodique et de travail dans les premiers stades de la MA est en adéquation avec l'atteinte majeure et précoce de l'HPC et du CPF (deux structures fortement impliquées dans ces tâches mnésiques). Par ailleurs, le système cholinergique qui joue un rôle central dans un grand nombre de processus mnésiques (Schliebs et Arendt, 2011), présente une importante altération lors du vieillissement et de la MA, et se caractérise notamment par une diminution des récepteurs de type nicotinique (en particulier le récepteur  $\alpha 7$ -nAChRs) (Picciotto et Zoli, 2002).

Dans ce contexte, l'objectif principal de cette étude, menée en collaboration entre l'Institut de Neurosciences Cognitives et Intégratives d'Aquitaine (INCIA) et l'Institut de Recherches Servier (IdRS), a été de mieux comprendre et caractériser les implications cognitives de l'interaction entre les peptides A $\beta$  et les récepteurs nicotiniques  $\alpha 7$ -nAChRs d'un point de vue comportemental et moléculaire, et d'étudier dans un second temps, l'impact de composés à potentiel agoniste ou antagoniste des récepteurs  $\alpha 7$ -NACHRs sur ces mêmes processus cognitifs et moléculaires.

Afin de répondre à ces objectifs, nous nous sommes dans un premier temps attachés à développer et valider un modèle d'étude *in vivo* des effets des peptides amyloïdes, basé sur des injections au niveau de l'HPC dorsal de formes oligomériques de peptide A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> synthétiques (A $\beta$ <sub>o(1-42)</sub>) (Brouillette et al., 2012), et à évaluer leurs effets toxiques à long terme d'un point de vue mnésique (mémoire de travail et spatiale) et moléculaire (voie de signalisation ERK/MAPK). L'utilisation d'un peptide synthétique possède l'avantage de cibler toujours la même séquence spécifique du peptide A $\beta$ , en comparaison à l'utilisation de peptides naturellement sécrétés, avec lesquels il est impossible de distinguer si les effets observés sont spécifiques du peptide A $\beta$ <sub>(1-40)</sub>, A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>, ou d'une autre séquence (Balducci et Forloni, 2014). Par ailleurs, il a été démontré que les formes oligomériques du peptide A $\beta$  dérivées de l'Homme ou synthétiques présentaient des effets comparables lorsque celles-ci



étaient appliquées sur des cultures de neurones hippocampiques (Lacor et al., 2007). De plus, ce modèle basé sur des injections intra-hippocampiques présente l'avantage de pouvoir cibler l'HPC qui est d'une part, une structure clé impliquée dans un grand nombre de processus mnésiques de par sa position anatomique et ses interactions avec d'autres structures, telles que le CPFm et la région septale et d'autre part, atteinte de manière très précoce et sévère dans la MA.

Les résultats obtenus à partir de cette étude sont présentés dans le chapitre I et font l'objet d'une première publication :

Faucher P., Mons M., Micheau J., Lestage P., Louis C., Beracochea D. Oligomeric assemblies of amyloid  $\beta$  peptide (1-42) injected into the dorsal hippocampus induces long-lasting working memory deficits through sustained alteration of ERK1/2 signaling pathway. (*Soumis Acta Neuropathologica*)

Les peptides  $A\beta_{(1-42)}$  ont la capacité de se fixer sur les récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs avec une très forte affinité (Wang et al., 2000a). Bien que ces interactions aient largement été caractérisées, le mécanisme par lequel les peptides amyloïdes exercent leurs effets délétères reste encore mal compris. En effet, il existe certaines divergences dans la littérature concernant le potentiel « agoniste » ou « antagoniste » des peptides  $A\beta$  vis-à-vis de ces récepteurs. Sur la base de ces observations, notre étude s'est attachée d'une part à évaluer au sein de notre modèle animal, l'impact des  $A\beta_{(1-42)}$  sur l'intégrité du système cholinergique en utilisant comme marqueur les niveaux d'expression de la choline acétyltransférase (ChAT), et d'autre part à évaluer l'implication de l'interaction  $A\beta_{(1-42)}/\alpha 7$ -nAChRs par une approche génétique (souris KO $\alpha 7$ -nAChRs) et pharmacologique spécifique des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs (traitements par un agoniste partiel S24795, agoniste complet PNU 282987 et antagoniste complet méthyllycaconitine). Les résultats obtenus à partir de cette étude sont présentés dans le chapitre II.

# **MATERIELS ET METHODES**



## I. Animaux

L'ensemble des expérimentations est effectué sur des souris mâles âgées de 10 mois appartenant à la lignée consanguine C57Bl6/J, provenant de l'élevage Janvier (Paris, FRANCE). A leur arrivée au laboratoire, les animaux sont placés en stabulation pendant une semaine en cage collective (20 souris) avec nourriture et boisson *ad libitum* dans l'animalerie dont la température, l'hygrométrie ainsi que le cycle nycthéral 12h/12h sont contrôlés (période diurne : 07h00-19h00). Avant chaque expérimentation, les animaux sont placés en cages individuelles durant une semaine avec nourriture et boisson *ad libitum* et sont manipulés quotidiennement afin de réduire le stress pouvant être engendré par l'expérimentateur. Toutes les expériences sont menées en accord avec le décret du 1<sup>er</sup> février 2013 transposant la directive européenne 2010/63UE pour l'utilisation d'animaux à des fins de recherche scientifique et l'approbation du comité d'éthique de Bordeaux (saisine n° 5012074-A).

## II. Chirurgie stéréotaxique et histologie

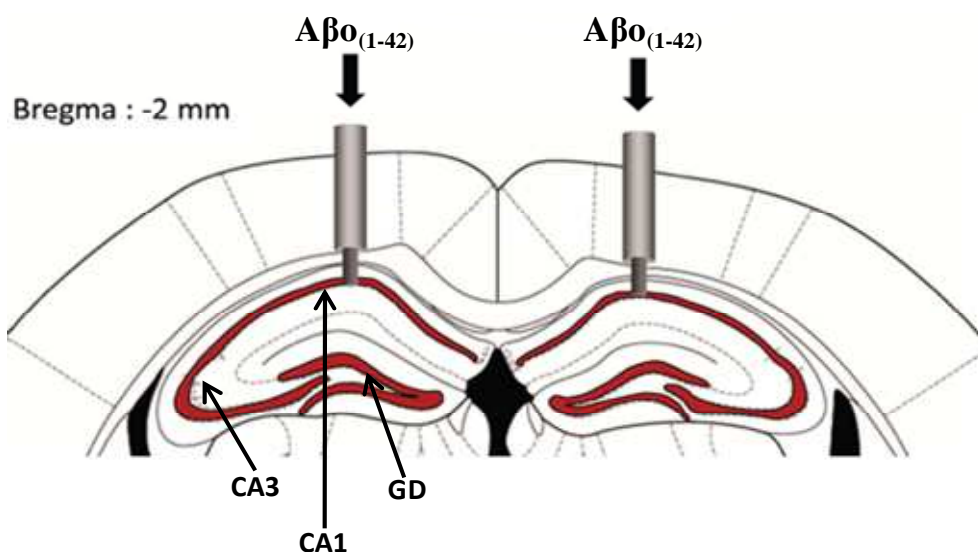
Les animaux sont anesthésiés par une injection intra-péritonéale (10mL/Kg) d'une solution contenant un mélange de Kétamine (100mg/Kg, Vibrac, France) et de Xylazine (6mg/Kg, Rompun Bayer, Allemagne) diluées dans de l'eau pour préparation injectable, puis sont placés sur un cadre stéréotaxique (KOPF). Afin de procéder aux injections intracérébrales, deux guides canules en acier chirurgical (longueur : 8mm ; diamètre intérieur : 0.25 ; diamètre extérieur : 0.45 ; LeGuellec, France) sont implantés bilatéralement, et placés 1mm au dessus du champ CA1 de l'HPC dorsal suivant les coordonnées stéréotaxiques déterminées à partir de l'Atlas de Franklin et Paxinos (2001) par rapport au bregma : antéropostériorité : -2mm ; latéralité : +/- 1.4mm ; verticalité : -0.9mm. Les guides canules sont maintenus en position et fixés au crâne par du ciment dentaire (Ionoglass, R&S-GACD, Paris, France). Consécutivement à l'opération, les animaux observent une phase de récupération de 10 jours pendant laquelle ils sont manipulés quotidiennement afin de prévenir les éventuels problèmes post-opératoires.

Une fois les tests comportementaux effectués, les cerveaux des animaux qui ne sont pas utilisés pour les analyses immunohistochimiques sont prélevés et analysés afin de s'assurer de la bonne implantation des canules dans la structure d'intérêt. Pour cela, les souris sont anesthésiées puis perfusées en intra-cardiaque par injection de 100mL d'une solution de paraformaldéhyde (PFA) à 4% dilué dans du tampon phosphate 0.2M à (pH 7.0). Les

cerveaux sont ensuite récupérés et laissés dans la solution de fixation pendant 24h, puis transférés 48h dans une solution cryoprotectrice (30% de saccharose dilué dans du tampon phosphate 0.1M). Des coupes frontales de 60 microns sont effectuées à l'aide d'un microtome à congélation, puis sont montées sur lames gélatinées, colorées à la thionine et incluses entre lames et lamelles. Les coupes sont ensuite analysées au microscope optique (Olympus BX50), ce qui permet d'exclure de l'étude tous les animaux chez lesquels les canules sont implantées hors de l'HPC.

### III. Injections intracérébrales d'A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>

Les injections bilatérales d'A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> (rPeptide, Bogart, Georgie, USA) sont effectuées dans la région CA1 de l'HPC dorsal (dCA1) (Fig. 24) durant 4 jours consécutifs au rythme d'une injection par jour. Pour cela, des canules (longueur = 9mm, diamètre = 0.2mm, LeGuellec, France) reliées à des seringues Hamilton (1 $\mu$ L) par des cathéters en polyéthylène sont insérées dans les guide-canules. Les seringues Hamilton (1 $\mu$ L) sont positionnées sur des pousse-seringues permettant de contrôler le volume injecté (0.5 $\mu$ L par côté) ainsi que le débit (0.1 $\mu$ L/min). A la fin de chaque injection, les canules sont laissées en place pendant 5 min afin de favoriser la diffusion du produit dans la structure. Lors de ces injections, les animaux sont libres de tout mouvement. Les animaux « témoins » reçoivent de façon comparable des injections de solution solvant, correspondant à la solution dans laquelle est purifié et conservé le peptide A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>. Cette solution est composée de 2.5mL de Tris 1M et 0.5mL d'EDTA 100mM diluée dans 47mL d'eau distillée.



**Fig. 24 : Localisation des sites d'injection des peptides A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> dans le dCA1. Les zones en rouge représentent les régions constituant l'HPC.**

#### IV. Préparation et dosage de la solution contenant le peptide A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>

Le flacon contenant 0.5mg d'A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> – HFIP (1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-propanol) (rPeptide, Bogart, Georgie, USA) est stocké au congélateur à -20°C. Les procédures de préparation et de dosage du peptide A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> sont basées sur celles décrites dans la littérature (Brouillette et al., 2012). Lors de son utilisation, le flacon est dans un premier temps laissé 10 min à température ambiante (environ 25°C). Une fois décongelé, il est centrifugé à 2500 tpm pendant 5 min puis la solution est diluée dans 500 $\mu$ L de HFIP (Sigma-Aldrich), ce qui permet de redonner sa conformation protéique initiale au peptide A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>. La solution est ensuite agitée au vortex à vitesse maximale pendant 1 minute puis le HFIP est évaporé sous un flux léger d'azote. Le peptide est ensuite suspendu dans 500 $\mu$ L de DMSO et agité à nouveau 1 minute à vitesse maximale afin de favoriser sa bonne solubilisation. Immédiatement après, le peptide A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> est séparé du DMSO en appliquant la solution sur une colonne de désalinisation (HiTrap Desalting column, GE Healthcare) préalablement équilibrée avec 25mL de tampon composé de 50mM de Tris-HCl et de 1mM d'EDTA (pH 7.4). Le peptide est ensuite élué de la colonne en appliquant 1mL de tampon à l'aide d'une seringue et récupéré dans un tube Eppendorf à faible adhésion. Le peptide A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> ainsi purifié est stocké en aliquots de 30 $\mu$ L à -80°C pour une durée maximale de 7 jours. La concentration en A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> de la préparation est mesurée en utilisant un kit de dosage BCA (BCA Protein Assay Kit, Pierce, USA). Cette méthode est basée sur la combinaison d'une réaction « biuret » et d'une détection colorimétrique sélective du cation Cu<sup>+</sup> par un agent unique contenant de l'acide bicinchonique. Une gamme étalon est effectuée en utilisant comme protéine de référence la BSA (2mg/Kg), puis les échantillons d'A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> sont déposés sur une plaque de 96 puits. Chaque point de la gamme étalon ainsi que chaque dépôt d'A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> sont fait en duplicatas. Le dosage se fait par spectrophotométrie (570nm) après une incubation des échantillons à 37°C pendant 45 min.

#### V. Pharmacologie

##### 1. Voie d'administration

Les traitements pharmacologiques utilisés au cours de cette étude, ont visé à évaluer l'implication des récepteurs  $\alpha$ 7-nAChRs dans les effets délétères induits par les A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>. Ces traitements ont été effectués au niveau systémique par voie i.p et de manière chronique, durant 10 jours consécutifs.

## 2. Molécules utilisées

Différentes molécules ciblant les récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs ont été utilisées :

- S24795 (*Laboratoires Servier*) : Cette molécule qui est un agoniste partiel des  $\alpha 7$ -nAChRs, est diluée dans du NaCl 0.9% et injecté aux doses de 1 et 3 mg/Kg.
- PNU 282987 (*Tocris*) : Cette molécule qui est un agoniste complet des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs, est diluée dans du NaCl 0.9% et injecté à la dose de 3mg/Kg.
- Metyllycaconitine (MLA) (*Tocris*) : Cette molécule est un antagoniste complet des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs. Elle est diluée dans du NaCl 0.9% et injectée à la dose de 3mg/Kg.

## VI. Procédures comportementales

### 1. L'alternance spontanée

L'alternance spontanée a été largement utilisée pour étudier la mémoire de travail chez l'animal. L'alternance spontanée est un comportement phylogénétiquement présent chez les rongeurs, qui consiste à alterner les choix d'entrée dans un labyrinthe en forme de « T » au cours d'essais successifs. Ce comportement est basé sur la motivation intrinsèque pour l'exploration des espaces nouveaux (Dember et Fowler, 1958; Egger, 1973). Toute théorie de l'alternance postule l'existence lors du second essai d'une trace mnésique correspondant aux informations reçues lors du premier essai (Douglas, 1975), si bien que l'alternance (choix au second essai du compartiment différent de celui visité au 1<sup>er</sup> essai) peut être utilisée comme un **index mnésique**. De nombreux travaux de l'équipe ont ainsi montré que l'alternance était sensible aux principaux facteurs connus chez l'homme pour induire l'oubli : le temps (délai entre essais) et l'interférence (Béracochéa et al., 1985; 1987 a et b; Tako et al., 1991 ; Chauveau et al., 2005).

L'épreuve d'alternances séquentielles est utilisée pour évaluer la mémoire de travail spatiale chez la souris (Beracochéa et al., 1987b ; Chauveau et al., 2005). L'alternance séquentielle permet d'évaluer la sensibilité aux interférences, un des facteurs principaux de l'oubli. Dans cette épreuve, la souris est soumise à plusieurs essais successifs séparés par un intervalle temporel constant. L'augmentation quantitative du nombre d'essais (6 essais successifs) provoque une chute progressive des performances, du 2<sup>nd</sup> essai au 6<sup>ème</sup> essai. Au 6<sup>ème</sup> essai (essai N) par exemple, l'animal doit se référer au choix réalisé au 5<sup>ème</sup> essai (essai N-1), sans tenir compte des choix antérieurs (du 1<sup>er</sup> au 4<sup>ème</sup> essais, essais N-2, N-3, etc.) lesquels

exercent une interférence proactive forte. La souris doit donc en permanence ignorer ou «effacer» les informations devenues non pertinentes d'un essai à l'autre («resetting mechanisms »).

Sur le plan neurobiologique, l'alternance spontanée requiert le système d'inhibition comportementale (inhibition d'un choix) et met en jeu les principales aires cérébrales recrutées dans la fonction mnésique, notamment d'une part l'HPC pour ce qui concerne le codage des attributs spatiaux et contextuels des informations (Celerier et al., 2004) et d'autre part le cortex frontal pour ce qui concerne l'organisation séquentielle des informations (Divac et al, 1975). Divers systèmes de neurotransmission modulent également le comportement d'alternance, notamment les systèmes cholinergique et noradrénergique centraux, connus également pour leur implication dans les processus mnésiques (Beracochea et al.,1992; Wenk et al., 1987; Chang et Gold, 2004; Rossetti et Carboni, 2005).

L'alternance séquentielle présente deux avantages majeurs par rapport à de nombreuses autres épreuves d'évaluation de la mémoire de travail : a) l'apprentissage est fortement réduit, puisqu'il implique un comportement spontané ; b) il ne nécessite pas de privation alimentaire, compte tenu de la motivation intrinsèque pour alterner présentée par les rongeurs.

### **A. L'appareil :**

Cette procédure comportementale est réalisée dans un labyrinthe en T situé dans une pièce à la luminosité constante (30 Lux) et dont les murs sont garnis d'indices visuels permettant aux animaux un repérage spatial. Le labyrinthe est composé d'un compartiment de départ (14x10x20) et de deux compartiments d'arrivée (29x10x20) séparés par une allée centrale (45x10x20). Une porte est placée à l'entrée de chaque compartiment. Elle peut être actionnée à distance par un système de vérins. Les déplacements des animaux sont visualisés à l'aide d'une caméra placée au dessus du labyrinthe.

### **B. Procédure (Fig.25)**

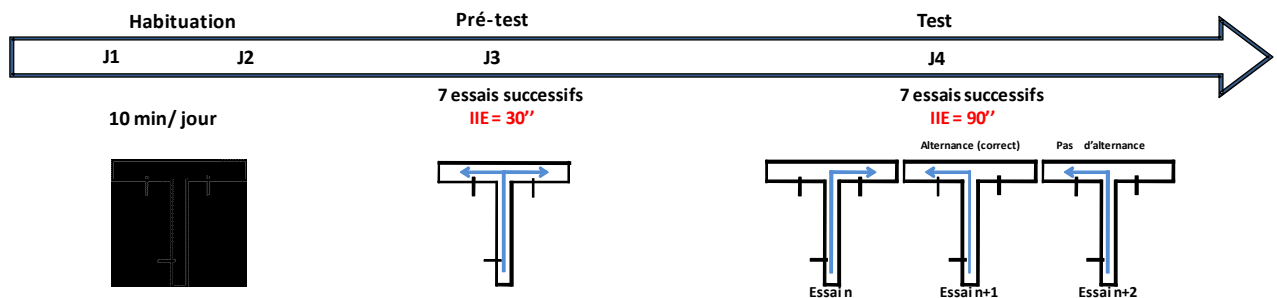
- **Habituation :** Dans un premier temps, les animaux sont soumis à deux sessions d'habituation de 10 min (1 session par jour) au cours desquelles ils sont libres de visiter l'intégralité du labyrinthe. Cette phase d'habituation permet d'une part une familiarisation des animaux avec l'appareil mais également avec son environnement (pièce, indices visuels).

- **Session pré-test :** les souris sont soumises à une première session d'alternance séquentielle, ayant pour but d'une part, d'habituer les animaux à la procédure (confinement, ouverture/fermeture des portes, manipulation par l'expérimentateur), et d'autre part d'assurer



la mise ne place du comportement d'alternance puisque le fait de parcourir le labyrinthe permet à l'animal de réaliser une cartographie spatiale du labyrinthe. Cette session pré-test est composée de 7 essais consécutifs séparés par un intervalle inter-essai (IIE) de 30 sec.

- **Session test :** le jour suivant, les animaux sont soumis à la phase test. Cette session est composée de 7 essais consécutifs séparés par un IIE de 90 sec. Au cours de chaque essai, l'animal est confiné dans le compartiment de départ pendant 90 sec, puis la porte est ouverte et l'animal peut entrer librement dans l'un des deux bras d'arrivée dans lequel il reste confiné durant un délai fixe de 30 sec. La souris est ensuite replacée dans le compartiment de départ pendant 90 sec avant d'effectuer un nouvel essai. Au terme des 7 premiers essais, les souris effectuent un 8<sup>ème</sup> essai séparé du 7ème par un intervalle inter-essai de 5 sec. Le huitième essai permet de s'assurer que les performances observées ne sont pas liées à un éventuel déficit motivationnel des animaux. En effet, le fait de réduire l'IIE entre le 7<sup>ème</sup> et le 8<sup>ème</sup> essai (de 90 sec à 5 sec) permet de réduire la force de l'interférence si bien que, si la motivation à alterner est intacte, l'animal devrait alors exprimer un taux d'alternance plus important au 8ème essai que pour les essais précédents.



**Fig. 25 : Représentation schématique de la procédure d'alternance séquentielle spontanée.** Elle se compose de deux sessions d'habituation, d'une session de pré-test composée de 7 essais consécutifs avec un IIE de 30 sec et d'une session test composée de 7 essais consécutifs avec un IIE de 90 sec suivis d'un huitième essai avec un IIE de 5 sec.

### C. Paramètres mesurés

Au cours de chaque essai, la latence d'entrée dans les bras ainsi que le choix du bras d'arrivée sont enregistrés, ce qui permet de définir la latence de choix moyenne ainsi que le pourcentage d'alternance défini par la formule (nombre d'alternance / nombre d'essais x 100). Le pourcentage d'alternance est utilisé comme index relatant les performances en mémoire de travail.

Par ailleurs, l'alternance spontanée étant sensible aux interférences proactives, une analyse du pourcentage d'alternance par blocs de 2 essais (bloc 1 = essai 2 + 3 ; bloc 2 = essai 4 + 5 ; bloc 3 = essai 6 + 7) a également été réalisée. Cette analyse a pour but de visualiser les

effets délétères sur la performance des interférences, qui se manifestent par une diminution progressive du pourcentage d'alternance au fur et à mesure des essais.

## **2. Mémoire de travail en piscine de Morris**

La mémoire de travail est évaluée chez la souris en utilisant une version modifiée du de l'épreuve d'appariement différé de place (Steele et Morris, 1999).

### **A. L'appareil**

Les expériences sont effectuées dans une piscine circulaire de 150 cm de diamètre et 55cm de hauteur, remplie avec de l'eau ( $21^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) rendue opaque par ajout de peinture blanche non toxique. Une plateforme de 13 cm de diamètre faite de Plexiglas transparent est immergée 1cm sous la surface de l'eau. Pour la phase d'habituation, un indice de 10 cm de hauteur est placé sur la plateforme permettant ainsi sa localisation visuelle. De nombreux indices visuels sont placés sur les murs de la pièce où se situe la piscine.

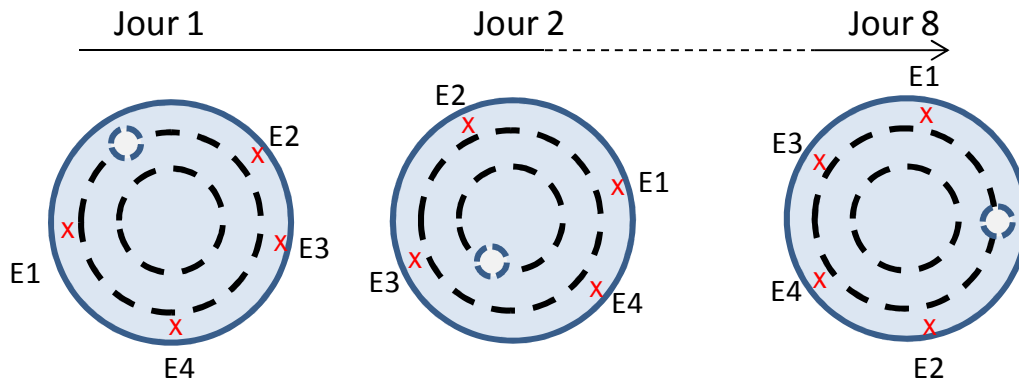
### **B. Procédure**

#### **- Habituation**

Dans un premier temps les animaux sont soumis à une session d'habituation au cours de laquelle ils doivent rejoindre une plateforme indicée en un temps maximum de 90 sec. Cette session est composée de 4 essais consécutifs au cours desquels la localisation de la plateforme ainsi que les points de départ des animaux sont différents entre chaque essai. Cette session d'habituation a pour but de familiariser les animaux avec leur environnement, l'eau et la plateforme.

#### **- Evaluation de la mémoire de travail**

Le lendemain de la session d'habituation, la procédure visant à évaluer la mémoire de travail débute (Fig. 26). Cette procédure est composée de 4 essais par jour durant 8 jours consécutifs au cours desquels la localisation de la plateforme immergée change chaque jour. Une session est composée de 4 essais : un premier essai (essai d'acquisition) au cours duquel les animaux ont 90 sec pour atteindre la plateforme immergée ; un second essai séparé du premier par un IIE de 60 sec ou 30 min (l'IIE entre l'essai 1 et l'essai 2 est alterné tous les jours durant les 8 jours de procédure) ; les essais 3 et 4 sont séparés par un IIE de 60 sec. De manière générale, chaque animal effectue 4 sessions avec un IIE de 60 sec et 4 sessions avec un IIE de 30 min entre les essais 1 et 2. Entre chacun des 4 essais, les animaux sont séchés et déposés dans leur cage d'élevage sous une lampe chauffante en attendant l'essai suivant. Les points de départ sont randomisés et équidistants de la plateforme.



**Fig. 26 : Représentation schématique de la procédure d'évaluation de la mémoire de travail en piscine de Morris.** Chaque session est composée de 4 essais au cours desquels les animaux doivent rejoindre en un temps maximum de 90 sec une plateforme immergée. Alternativement entre chaque session, les IIE entre l'essai 1 et l'essai 2 sont fixés à 60 sec ou à 30 min, alors que les IEE entre les essais 2 et 3 et 3 et 4 sont de 60 sec. Au cours des 8 sessions, chaque animal effectue 4 sessions avec un IEE de 60 sec entre l'essai 1 et l'essai 2, et 4 sessions avec un IEE de 30 min. Cette procédure permet à chaque animal d'être son propre contrôle. La localisation de la plateforme et des points de départ est randomisée et différente à chacune des sessions. *E1, 2, 3, 4 (Essai 1, 2, 3, 4)*

### C. Paramètres mesurés

La latence moyenne (sec  $\pm$  sem) pour trouver la plateforme à chaque essai est mesurée pour chaque condition (IIE de 60 sec ou 30 min), ainsi que le « saving » entre les essais 1 et 2 correspondant à  $[(\text{Latence essai 1} - \text{Latence essai 2}) / (\text{Latence essai 1} + \text{Latence essai 2})]$ , et enfin la vitesse moyenne de nage des animaux (cm/sec).

Les performances sont enregistrées par une caméra vidéo, située au dessus de la piscine, et connectée à un système informatique (ViewPoint, France).

### 3. L'alternance forcée différée

Cette procédure comportementale est réalisée dans le même labyrinthe en T que lors des épreuves d'alternance spontanée.

Ce test permet d'évaluer la mémoire spatiale à long terme (Béracochéa et Jaffard, 1985 ; Lalonde, 2002). L'épreuve comprend 4 phases : une phase d'habituation, une phase d'alternance spontanée, une phase d'acquisition et une phase test de rappel (Fig. 27).

#### - Habituation

Lors de cette phase, comme pour la procédure d'alternance spontanée, les animaux sont soumis à deux sessions d'habituation de 10 min (1 session par jour) au cours desquelles ils sont libres de visiter l'intégralité du labyrinthe. Cette phase d'habituation permet d'une

part une familiarisation des animaux avec l'appareil mais également avec son environnement (pièce, indices visuels).

- **Alternance spontanée :**

Les animaux sont placés pendant 30 sec dans le compartiment de départ. Au terme de ce délai, la porte est ouverte et l'animal est libre d'entrer dans l'un des deux bras d'arrivée. Après être entré, la porte est fermée et l'animal est confiné dans le bras pendant 30 sec. L'animal est de nouveau replacé dans le compartiment de départ pour un nouvel essai. L'animal est ainsi soumis à 7 essais consécutifs.

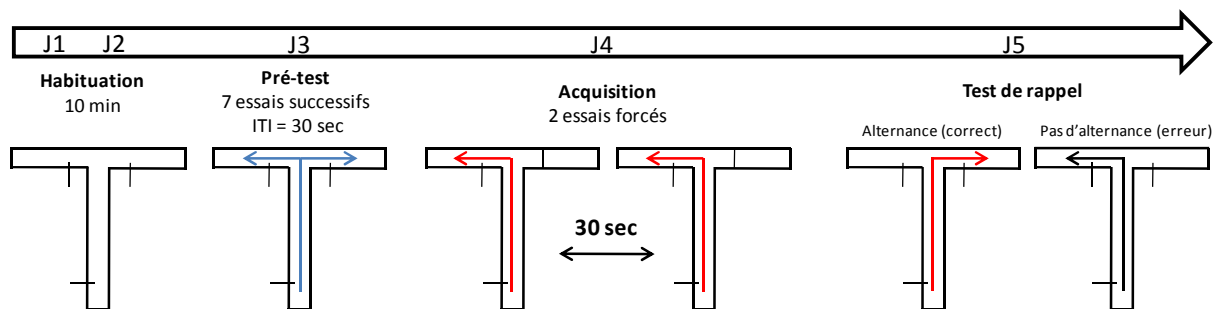
- **Acquisition**

Lors de la phase d'acquisition, les animaux réalisent 2 essais forcés au cours desquels ils sont contraints d'entrer deux fois successivement dans le même bras d'arrivée. Chaque essai est séparé par un IIE de 30 sec.

- **Test**

La phase test de rappel est réalisée 24 heures après l'acquisition. Au cours de cette phase, l'animal est libre d'entrer dans chacun des bras d'arrivée du labyrinthe, la réponse correcte étant la visite du bras opposé à celui visité lors de la phase d'acquisition.

Chaque animal est soumis à 2 session d'essais forcés dans lesquels il est obligé d'entrer alternativement dans les bras gauche ou droit de l'appareil, afin de compenser une éventuelle préférence spatiale pour l'un des côté lors de la phase de test. Chaque session est séparée par un délai de 72 heures.



**Fig. 27 : Représentation schématique de la procédure d'alternance différée.** Elle se compose de deux sessions d'habituation, d'une session pré-test, composée de 7 essais successifs séparés par un IIE de 30 sec, permettant aux animaux de se familiariser avec la procédure d'alternance, d'une session d'acquisition au cours de laquelle les animaux sont soumis à deux essais forcés successifs séparés par un IIE de 30 sec. Le lendemain de cette session d'acquisition, les animaux sont testés lors d'une phase de rappel au cours de laquelle les performances d'alternance des animaux sont évaluées.

### - Paramètres mesurés

Le paramètre mesuré au cours de cette expérience est le pourcentage d'alternance effectué par les animaux ainsi que la latence d'entrée dans les bras d'arrivée.

## 4. Analyses statistiques

Les résultats comportementaux ont été analysés à l'aide du logiciel statistique Statview®. Les comparaisons entre groupes ont été effectuées par une analyse de variances (ANOVA) à un facteur ou plusieurs facteurs, suivie le cas échéant, d'un test statistique d'analyse post-hoc Fischer (PLSD) afin de comparer les différents groupes entre eux. Pour les épreuves d'alternance séquentielle spontanée et d'alternance différée, des comparaisons des performances moyennes par rapport au hasard (i.e. 50%) ont été réalisées avec un test *t* non apparié de Student. La significativité statistique est établie à  $p < 0.05$ , avec pour représentation graphique : \* :  $p < 0.05$  ; \*\* :  $p < 0.01$  ; \*\*\* :  $p < 0.001$  par rapport au hasard et # :  $p < 0.05$  ; ## :  $p < 0.01$  ; ### :  $p < 0.001$  entre les groupes.

## VII. Etudes biomoléculaires

### 1. Immunohistochimie

#### A. Perfusion et préparation des cerveaux

Les animaux sont sacrifiés 30 min après le début du test d'alternance spontanée par perfusion intra-cardiaque puis les cerveaux sont prélevés et post-fixés pendant 24h (cf. histologie). Des coupes frontales de 40  $\mu\text{m}$  d'épaisseur sont ensuite réalisées au vibratome (Leica) dans du tampon phosphate 0.1M puis placées dans une solution cryoprotectrice composée de 30% d'éthylène glycol, 30% de glycérol dans du tampon phosphate 0.1M. Chaque cerveau est divisé en 4 lots de coupe, permettant de réaliser plusieurs analyses sur un même animal.

#### B. Procédure générale

Dans un premier temps, les coupes flottantes sont transférées dans des plaques de cultures composées de 6 puits puis rincées à 4°C avec du tampon Tris 0.1M additionné de 0.9% de NaCl à pH 7.4 (Tris-NaCl). Elles sont ensuite traitées pendant 10 min à 4°C avec une solution permettant d'inhiber les peroxydases endogènes (Tris-NaCl +  $\text{H}_2\text{O}_2$  1% + Méthanol 10%). Les coupes sont perméabilisées et incubées avec une solution de saturation contenant 0.05% de Tween et 8% de sérum de chèvre pendant une heure à 4°C afin de bloquer les sites

non spécifiques. Elles sont ensuite incubées avec les anticorps primaires (Tableau 2) dilués dans la solution de saturation pendant 48 heures à 4°C sous agitation. Les coupes sont incubées pendant 2 heures à température ambiante en présence d'un anticorps secondaire de chèvre anti-lapin biotinylé (1 : 2000, dans du TBS 0.1M, Jackson Immunoresearch), puis avec le complexe avidine-biotine-peroxydase (1 : 400, dans du TBS 0.1M, Vectastain Elite kit, Vector Laboratories) à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 2 heures. Après avoir effectué 4 rinçages au Tris 0.1M, l'activité peroxydasique est révélée par l'utilisation de diaminobenzidine (0.05%) peroxydée (DAB) dissoute dans une solution de Tris 0.1M + 0.02% d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, excepté pour l'anticorps GFAP pour lequel nous avons utilisé un kit de détection composé de diaminobenzidine couplé à du nickel. Par la suite, la réaction est arrêtée par 3 rinçages au Tris 0.1M à 4°C, puis les coupes sont montées sur lame, déshydratées dans deux bains de toluène et incluses entre lames et lamelles en utilisant une résine (Eukitt).

### C. Anticorps primaires utilisés :

	Espèce	Fournisseur	Dilution
A $\beta$ (1-42) monoclonal	Lapin	Invitrogen	1 : 2000
pERK 1/2 polyclonal	Lapin	Cell Signaling	1 : 2000
GFAP polyclonal	Lapin	Santa Cruz	1 : 500

**Tableau 2 : Récapitulatif des différents anticorps primaires utilisés au cours de cette étude**

### D. Quantification des marquages immunohistochimiques et analyses

La quantification du marquage s'effectue en aveugle, à l'aide d'un système d'imagerie semi-automatisé (Biocom Visiolab 2000, V4.50). Pour chaque structure examinée, une série de 6 à 8 comptages est effectuée bilatéralement sous un grossissement X10. Les données sont ainsi moyennées et exprimées en nombre de noyaux immunopositifs par mm<sup>2</sup>. Les résultats sont analysés grâce au logiciel Statview par ANOVA à un ou plusieurs facteurs de variance. Lorsqu'un effet global ou une interaction entre plusieurs effets apparaissent statistiquement significatifs ( $p < 0.05$ ), les analyses sont affinées par des comparaisons de groupes deux à deux à l'aide de tests *post-hocs* (Fisher PLSD).

Différentes régions hippocampiques ont été analysées (CA1, CA3, GD), ainsi que les cortex prélimbique (PL) et infralimbique (IL) appartenant au CPFm et la région septale (SM et SL) pour leur implication dans les tâches de mémoire de travail, ainsi que pour leur atteinte

précoce dans la maladie d'Alzheimer (*Cf : Introduction générale*). Enfin, des quantifications ont également été réalisées au niveau du noyau latéral de l'amygdale (LA), structure qui pourrait moduler les processus cognitifs notamment dans le cadre du vieillissement normal et pathologique (Phelps et LeDoux, 2005).

## 2. Dosage de la ChAT

### A. Préparation des échantillons

Les animaux ont reçu 4 injections intra-dCA1 d'A $\beta$ <sub>0(1-42)</sub> ou de Solvant (une injection par jour) et ont été sacrifiés 7 jours après la dernière injection par décapitation. Les cerveaux ont été rapidement prélevés et disséqués afin de récupérer différentes structures cérébrales d'intérêt : l'HPCd, le CPFm, le septum et le striatum. Une fois prélevées, les structures cérébrales ont été déposées dans des tubes Eppendorf stériles, congelées à l'aide d'azote liquide et stockées au congélateur à -80°C. Le jour du dosage, tous les échantillons sont broyés mécaniquement dans du tampon phosphate-NaCl 0.01M (pH 7.0-7.2) et centrifugés à la vitesse de 5000g à 4°C pendant 5 minutes. Une fois le surnagent récupéré, la quantification des protéines totales est effectuée par méthode colorimétrique à l'aide du kit de dosage BCA (BCA Protein Assay Kit, Pierce, USA) (*Cf : Matériels et Méthodes IV*).

### B. Procédure de dosage de la ChAT

Le dosage de ChAT est effectué par méthode ELISA à l'aide du kit (Enzyme-linked Immunosorbent Assay for ChAT ; Cloud-Clone Corp. Houston, USA). Le principe de cette réaction est basée sur la reconnaissance de la ChAT par un anticorps spécifique préalablement déposé dans chacun des puits de la plaque 96 puits. L'anticorps est couplé à une enzyme qui, en présence de son substrat, produit un composé coloré dont la densité optique est mesurée à la longueur d'onde de 450 nm. Dans un premier temps une gamme étalon est réalisée puis tous les échantillons sont déposés sur la plaque 96 puits. Par la suite, le complexe avidine-HRP (avidine-HorseRadish Peroxydase) est ajouté dans chacun des puits et incubé 1h à 37°C. Le substrat de l'enzyme est ensuite ajouté et la plaque 96 puits est incubée à 37°C pendant 20 minutes. La réaction est stoppée par l'ajout d'une solution d'acide sulfurique induisant un changement de couleur qui est mesuré à l'aide d'un spectrophotomètre à la longueur d'onde de 450 nm. La concentration de la ChAT est ensuite déterminée par comparaison de la densité optique de chaque échantillon par rapport à la gamme étalon.

Les analyses statistiques ont été effectuées par ANOVA (seuil de significativité ( $p < 0.05$ ) à l'aide du logiciel Statview.

# **CHAPITRE I**





# Chapitre I : Impact d'injections d'A $\beta$ <sub>o(1-42)</sub> dans le CA1 de l'hippocampe dorsal sur différentes formes de mémoire et sur les cascades moléculaires associées

## I. Introduction

Comme nous l'avons vu au cours de l'introduction générale, la perturbation des processus mnésiques est une des caractéristiques centrale de la MA (Perry et al., 2000), qui se manifeste dans les premiers stades de la maladie par une atteinte de la mémoire épisodique et de la mémoire de travail (Stopford et al., 2012). Ces deux formes de mémoires sont soutenues par deux structures cérébrales majeures : l'HPC et le CPF, atteintes précocément dans la MA (Morris et Baddeley, 1988 ; Bondi et al., 2008 ; Webster et al., 2014). Cependant, les causes histopathologiques conduisant à ces déficits mnésiques restent encore soumises à controverse, notamment en ce qui concerne les formes hyperphosphorylées de la protéine tau (Braak et Braak, 1991 ; Mandelkow et al., 2003) ou l'accumulation de dépôts d'A $\beta$  (Hardy et Selkoe, 2002 ; Thal et al., 2002). Cependant, bien que le débat est toujours d'actualité en ce qui concerne le marqueur le plus prédictif de la MA, des observations récentes suggèrent une forte interaction entre A $\beta$  et tau, avec notamment A $\beta$  qui potentialiserait la phosphorylation de tau, suggérant que les peptides A $\beta$  seraient le biomarqueur majeur impliqué dans la physiopathologie de la MA (pour revue : Nisbet et al., 2015).

Toutefois, du fait que les dépôts amyloïdes ne corrèlent pas avec l'apparition des déclin cognitifs au niveau clinique (Terry et al., 1991 ; Andreasen et al., 2005 ; Nordberg et al., 2008), il a été suggéré que les espèces oligomériques solubles d'A $\beta$  (A $\beta$ <sub>o(1-42)</sub>) seraient responsables des effets neurotoxiques ainsi que des conséquences physiopathologiques de la MA (Cleary et al., 2005 ; Haass et Selkoe, 2007 ; Benilova et al., 2012). Par conséquent, de nombreuses études se sont intéressées à l'impact d'injections intracérébrales d'A $\beta$ <sub>o(1-42)</sub>, avec une grande variété de résultats, dépendants du site d'injection et de la nature du peptide (pour revue : Chambon et al., 2011). Cependant, peu d'étude ont évalué l'impact d'injections locales d'oligomères d'A $\beta$  au niveau de l'HPCd. En effet, une étude récente a démontré qu'une injection intra-hippocampique d'A $\beta$ <sub>o(1-42)</sub> induit une perturbation de la mémoire de travail lorsque celle-ci était évaluée 10 minutes après l'injection, suggérant que le déficit observé est attribuable à l'effet neurotoxique aigu du peptide (Pearson-Leary et McNay, 2012).

Ces observations nous ont donc conduit à étudier les conséquences à long terme (7 jours) de l'administration d'A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> dans le dCA1 sur différentes formes de mémoire (mémoire de travail et mémoire spatiale) chez la souris.

Par ailleurs, bien que de nombreux mécanismes moléculaires sous-tendant les effets délétères induits par les peptides amyloïdes ont été étudiés, il existe de nombreuses preuves montrant que les A $\beta$  perturbent un certain nombre de kinases importantes pour la mémoire (Ma et al., 2007 ; Zhu et al., 2002). Parmi ces kinases, ERK semble être particulièrement sensible aux effets des A $\beta$  au cours de l'évolution de la pathologie (Ma et al., 2007 ; Kim et Choi, 2010). Cependant, la façon dont les A $\beta$  régulent ERK est encore soumise à controverse (Dineley et al., 2001 ; Frasca et al., 2008 ; Savage et al., 2002 ; Stanciu et al., 2000 ; Townsend et al., 2007). De plus, la régulation de ERK semble être dépendante de l'évolution de la MA, et se caractérise par une activation dans les stades précoces, suivie par une perte de cette activation dans les stades avancés (Webster et al., 2006). Enfin, bien que les A $\beta$  semblent intervenir dans la régulation de ERK, il semblerait que ERK soit capable de réguler le métabolisme de l'APP et la production d'A $\beta$  (Cho et al., 2007).

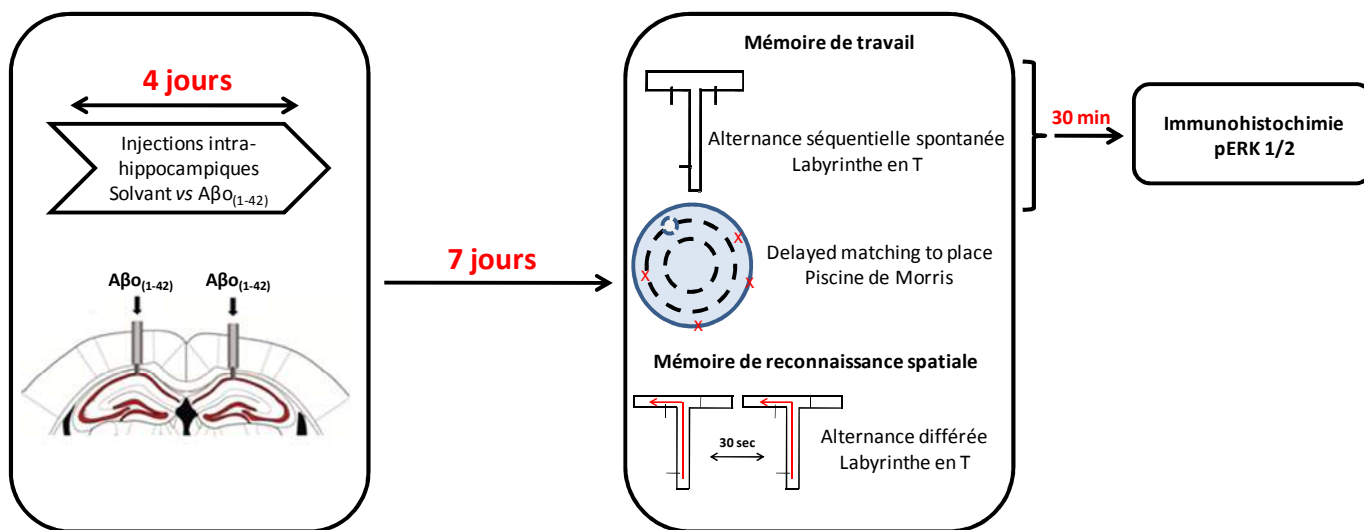
Sur la base de ces observations, nous avons émis l'hypothèse que l'injection d'A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> au niveau de la région CA1 de l'hippocampe (dCA1) devrait induire une perturbation durable de formes de mémoire dépendantes de l'hippocampe, et impacter l'activation de la voie ERK/MAPK au sein de réseaux neuronaux spécifiquement impliqués dans ces processus mnésiques.

## II. Méthodologie

Les expériences ont été menées, sur des souris mâles C57Bl6/J âgées de 10 mois ayant reçu un traitement intra-dCA1 d'A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> ou de Solvant durant 4 jours consécutifs. Chacune des procédures comportementales et immunohistochimiques est détaillée dans la partie « Matériels et Méthodes » de ce manuscrit.

Sept jours après la dernière injection, les performances mnésiques des animaux ont été évaluées par différents tests comportementaux (Fig. 28) mettant en jeu la mémoire de travail, en alternance séquentielle spontanée et dans une épreuve d'appariement de place différée, ou la mémoire spatiale à long terme (test d'alternance différée). Chacun de ces tests comportementaux a été réalisé sur des cohortes d'animaux indépendantes. Les animaux ayant effectué la procédure d'alternance séquentielle spontanée ont été sacrifiés par perfusion intracardiaque 30 minutes après le début du test, et les niveaux d'activation/phosphorylation de

ERK1/2 ont été mesurées par analyse immunohistochimique au niveau de l'HPC (GD, CA1 et CA3), du CPF (IL, PL), du SM et de l'amygdale (LA).



**Fig. 28 : Plan expérimental des expériences du chapitre I.** Les animaux reçoivent 4 injections de Solvant ou d'A $\beta_{(1-42)}$  dans le dCA1 (une injection par jour). Sept jours après la dernière injection les performances mnésiques des animaux sont évaluées selon deux épreuves mettant en jeu la mémoire de travail (alternance séquentielle spontanée et appariement de place différé) et une épreuve mettant en jeu la mémoire de reconnaissance spatiale (alternance différée). Chacun des tests comportementaux ont été réalisés sur des cohortes d'animaux indépendantes. Concernant l'épreuve d'alternance séquentielle spontanée, les animaux ont été sacrifiés 30 min après le début du test et des analyses immunohistochimiques sur les formes activées/phosphorylées de ERK1/2 ont été réalisées.

### III. Principaux résultats et conclusions

1- Au niveau histopathologique, la procédure d'injection d'A $\beta_{(1-42)}$  conduit au dépôt de peptides strictement localisée au niveau de l'HPCd et plus particulière au niveau du GD. Ces dépôts amyloïdes ne sont plus détectables 7 jours après la dernière injection, mais conduisent à une mort neuronale strictement localisée au niveau du GD.

2- Les injections d'A $\beta_{(1-42)}$  dans le dCA1 induisent d'important déficits de mémoire de travail mais préservent la mémoire spatiale, lorsque les animaux sont testés 7 jours après la dernière injection.

3- D'un point de vue moléculaire, les déficits observés en mémoire de travail s'accompagnent d'une absence d'activation de ERK1/2 au niveau de l'HPCd (GD), du cortex

préfrontal (PL) et de la région septale (SM), alors que cette activation est préservée dans le dCA3, l'IL et l'amygdale.

**Dans leur ensemble, nos résultats révèlent que les injections locales d'A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> dans le dCA1 induisent une perturbation spécifique de la mémoire de travail, associée à une modification de l'activation de ERK au sein de deux réseaux neuronaux spécifiques impliquant l'HPC : les voies hippocampo-préfrontale et hippocampo-septale.**

Nos données comportementales sont cohérentes avec les observations cliniques effectuées sur des patients souffrant de MA et montrant une atteinte précoce de la mémoire de travail et une atteinte plus tardive de la mémoire spatiale (Backman et al., 2005 ; Twamley et al., 2006 ; Bondi et al., 2008). Au regard du rôle joué par l'HPC dans les processus mnésiques spatiaux (O'Keefe et Nadel, 1978) il apparaît surprenant que le traitement par les A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> n'induit pas de déficit en mémoire spatiale à long terme. En effet, de nombreuses études lésionnelles de l'hippocampe ont démontré des perturbations de la mémoire spatiale (Morris et al., 1982 ; McGregor et al., 2004). Une des explication possible serait de considérer que la toxicité engendrée par les injections d'A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> n'est pas équivalent à un effet lésionnel, ou que l'amplitude de cette lésion hippocampique ne permet pas d'induire un dommage suffisant pour perturber la mémoire spatiale (Moser et al., 1993). Plus probablement, les mécanismes neuropathologiques induits par les injections A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> sont trop prématurés pour altérer la mémoire spatiale dans une tâche présentant un degré de difficulté relativement faible pour les animaux.

Ces résultats comportementaux sont confirmés par les analyses immunohistochimiques ciblant l'activation/phosphorylation de ERK1/2 dans différentes structures cérébrales. Nos résultats montrent que l'épreuve d'alternance séquentielle spontanée induit une activation de ERK1/2 qui est bloquée dans le GD, le PL et le SM par les injections intra-dCA1 d'A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>. Ces trois structures sont anatomiquement et fonctionnellement liées (Thierry et al., 2000 ; Vertes et al., 2004 ; Spellman et al., 2015). En effet, il a été démontré récemment que l'interaction entre l'HPC et le CPF, durant la phase d'encodage d'une tâche mettant en jeu la mémoire de travail spatiale, est médié par la synchronisation des ondes gamma entre ces deux structures (Spellman et al., 2015). De plus, le SM joue un rôle important dans la représentation des informations spatiales (Mamad et al., 2015). Par ailleurs, l'activation de ERK1/2 n'est pas affectée dans l'IL et dans le LA par les injections d'A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>. Ces deux structures semblent faire partie d'un autre système anatomique et fonctionnel impliqué dans le développement des habitudes et des activités

autonomes (Kilcross et Coutureau, 2003 ; Vertes et al., 2004) et ne semble pas profondément impliqué dans la mémoire de travail.

En conclusion, nos résultats indiquent que les injections intra-dAC1 d'A $\beta$ <sub>0(1-42)</sub> induisent une perturbation de la mémoire de travail associée à un blocage de l'activation de ERK1/2 au sein d'un circuit cérébral impliquant l'HPC le SM et le PL. De plus, ces altérations cognitives et moléculaires sont observées 7 jours après la dernière injection alors que les dépôts amyloïdes ne sont plus observables. Ces résultats suggèrent que le modèle *in vivo* basé sur 4 injections d'A $\beta$ <sub>0(1-42)</sub> dans le dCA1 pourrait constituer un outil intéressant pour étudier spécifiquement l'impact des A $\beta$ <sub>0(1-42)</sub> dans l'HPC, qui caractérise les phases précoces de la MA. De plus, ce modèle donne une nouvelle vision sur la façon dont les peptides amyloïdes localisés dans l'HPC peuvent induire à distance des perturbations de certains réseaux neuronaux.



**Oligomeric assemblies of amyloid  $\beta$ -peptide (1-42) injected into the dorsal hippocampus induce long-lasting working memory deficits through alterations of ERK signaling pathway.**

**Pierre Faucher<sup>1</sup>. Nicole Mons<sup>1</sup>. Jacques Micheau<sup>1</sup>. Caroline Louis<sup>2</sup> and Daniel Beracochea<sup>1</sup>**

**1 : INCIA, Universités de Bordeaux, UMR CNRS 5287, Bat Biologie animale B2, Avenue G. St-Hilaire, 33608 Pessac, France**

**2 : Institut de Recherches Servier, Chemin de Ronde, Croissy, France**

✉ Daniel Beracochea  
INCIA UMR CNRS 5287  
Allée Geoffroy St Hilaire  
CS 50023, Bâtiment B2  
33615 Pessac  
France  
[daniel.beracochea@u-bordeaux.fr](mailto:daniel.beracochea@u-bordeaux.fr)

Number of figure: 7 + 1 supplemental data

Number of pages: 40

Abstract: 256 words; Introduction: 938 words; Discussion: 1791 words.

*Keywords:* Alzheimer disease; A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>; Hippocampus; ERK/MAPK; Working memory



## Abstract

Increasing evidence suggests that abnormal brain accumulation of soluble amyloid- $\beta_{1-42}$  oligomers ( $A\beta_{(1-42)}$ ) plays a causal role in Alzheimer's disease (AD), and in particular may cause the cognitive deficits that are the major hallmark of AD. Impairments in working memory can predict the shift from mild cognitive impairment (MCI) to AD and the rate at which AD progresses with age. The hippocampus is one of the most important structure involve in memory processes such as working and spatial memory and strongly and precociously affected during the early stages of AD. The extracellular signal-regulated kinase (ERK) which is involve in memory functions, had been found to be activate by amyloid peptides. In this study, we investigated using an *in vivo* model based on intra-hippocampal injections of  $A\beta_{(1-42)}$  the long-lasting impact of  $A\beta_{(1-42)}$  on working and spatial memory and on the related activation of ERK1/2. We found that injections of  $A\beta_{(1-42)}$  injections into the dorsal hippocampus lead to specific impairment of working memory, while spatial memory remained unaffected. Moreover, working memory deficits were correlated with impairments of ERK1/2 activation in specific brain structures involved in this task. These results suggest that  $A\beta_{(1-42)}$  into the dorsal hippocampus induce working memory impairments by disrupting the connectivity between hippocampus and two tightly connected brain structures (medial prefrontal cortex and septum) through the ERK/MAPK pathway. Moreover, this model appears to be good one to study the  $A\beta_{(1-42)}$  impact in specific brain structures and may allow the implementation of new therapeutic strategies in order to prevent cognitive deficits related to early stages of AD.

## Introduction

Alzheimer's disease (AD) is a progressive neuropathological disorder that develops over decades, leading to neuronal loss and cognitive deficits. Memory dysfunction is a core, defining characteristic of AD (Perry et al., 2000) earliest manifestations being impairments in episodic memory and in working memory processing (Stopford et al., 2012). Interestingly, these two forms of memory are sustained by two main cerebral structures, namely the hippocampus (HPC) and the medial prefrontal cortex (mPFC), which are early affected in the time-course development of AD (Bondi et al., 2008; Morris and Baddeley, 1988; Webster et al., 2014). In addition, long-term memory seems to be impaired in more advanced stages of the disease (Tarawneh and Holtzman, 2012). However, the histopathological causes subtending these gradual memory deficits are still subject to controversy. Indeed, while the impact of hyperphosphorylated forms of tau proteins on memory deficits (Mandelkow et al., 2003) was investigated across the Braak stages (Braak and Braak, 1991), the causal role of the development of  $\beta$ -amyloid peptide ( $A\beta$ ) deposits was also scrutinized as an etiological factor of AD (Hardy and Selkoe, 2002; Walsh et al., 2005; Shankar et al., 2008; Thal et al., 2002). While determining which of these biomarkers is the most representative of the disease is still under debate, recent evidence suggests a strong interplay between  $A\beta$  and tau, with tau acting as a downstream target of  $A\beta$  (reviewed in: Nisbet et al., 2015).

In the human brain, there are two main forms of  $A\beta$  species ( $A\beta_{(1-40)}$  and  $A\beta_{(1-42)}$ ) resulting from the proteolysis of the amyloid precursor protein (APP) (Barthet et al., 2012). Under normal physiological conditions, the  $A\beta_{(1-40)}$  isoform is the most common isoform contrary to the AD pathology in which the  $A\beta_{(1-42)}$  isoform is the most abundant (Kuo et al., 1996), having the highest propensity for aggregation and leading to their accumulation in senile plaques (Andreasen et al., 2008; Lista et al., 2014). However, findings from some brain patients suffering from AD revealed that amyloid plaques do not necessarily precede the occurrence of cognitive declines (Terry et al., 1991; Andreasen et al., 2005). In contrast, important amyloid deposits have been observed in cognitively normal people (Nordberg, 2008; Villemagne et al., 2008). These observations indicate that senile plaques may not always clinically correlate with AD. Given that, it has been suggested that small soluble oligomeric species of  $A\beta$  ( $A\beta_{o(1-42)}$ ), rather than amyloid plaques, may be neurotoxic and responsible for synaptic and network dysfunctions leading to the physiopathologic consequences of AD (Cleary et al., 2005; Haass and Selkoe, 2007 ; Benilova et al., 2012). Therefore, the binding of soluble  $A\beta$  assemblies to cellular membranes might trigger multiple

effects affecting diverse pathways leading gradually to the cognitive manifestations of the clinical disorder (Mucke and Selkoe, 2012). To further investigate the synaptotoxicity of small isomers, experimental approaches have looked at the behavioral consequences induced by intracerebral injections of A $\beta$ . Unfortunately, contradictory results have emerged which appear to depend on the site of injection and the nature of the peptide (for review: Chambon et al., 2011). To our knowledge, only a few studies have evaluated the impact of direct infusion of A $\beta$ <sub>0(1-42)</sub> into the dorsal hippocampus on memory processes. However, recent findings showed that intra-hippocampal infusion of A $\beta$ <sub>0(1-42)</sub> affected working memory when memory performances were evaluated only 10 minutes after the injection, suggesting that such deficits could be attributable to the acute neurotoxic effect of the peptide (Pearson-Leary and McNay, 2012). In contrast, the long-lasting effects of oligomeric assemblies of intra-HPC A $\beta$  on working memory, which is strongly affected in early stages of AD, remain poorly characterized.

Although multiple mechanisms for A $\beta$  peptide-induced molecular alterations and consequently memory deficits have been hypothesized there is considerable evidence implicating a role for A $\beta$ -induced disruption of kinases critical for memory (Ma et al., 2007; Zhu et al. 2002). Among these kinases, the extracellular signal-regulated kinase (ERK) has often been claimed to be particularly sensitive to A $\beta$  species during the course of the disease (Ma et al., 2007; Kim and Choi, 2010). However, the direction of ERK regulation by A $\beta$  is far to end up with a clear consensus, all sorts of ERK responses to A $\beta$  being reported (Dineley et al., 2001; Frasca et al., 2008; Savage et al., 2002; Stanciu et al., 2000; Townsend et al., 2007). In the other hand, ERK regulation in AD appears to be stage-dependent with initial activation at early stages followed by loss of activation in advanced AD (Webster et al., 2006). Beside A $\beta$  modulation of ERK activity, ERK signaling pathway has been shown to reciprocally regulate APP metabolism and A $\beta$  production (Cho et al., 2007). As mentioned above, we have also focused on ERK because a wide variety of studies indicate its critical importance in synaptic plasticity and memory formation (Adams and Sweatt, 2002; Nagai et al., 2006). Therefore, the alteration of the dynamic of ERK activation may impinge memory-related processes and play a cardinal role in the genesis of memory deficits in AD.

Altogether and in view of the scarcity of the experiments exploring the potential long-lasting effect of soluble A $\beta$ , the aim of this report was to investigate the delayed impact of A $\beta$ <sub>0(1-42)</sub> injections into the hippocampus on mnemonic and molecular processes that are sensitive to AD pathology.

In the present series of experiments, we analyzed the consequences of  $A\beta_{(1-42)}$  injections into the CA1 of the dorsal hippocampus (dCA1) on two working memory tasks and on a long-term spatial memory. We then examined the effects of intra-dCA1  $A\beta_{(1-42)}$  injections on memory-induced ERK1/2 activation in a functionally related brain network to better understand how local changes into the dCA1 could affect a brain circuitry during memory processing.

## Material and Methods

### *Animals:*

The subjects were 10-month-old naïve male mice of the C56BL/6 inbred strain obtained from Janvier (St Berthevin, France). Mice were housed individually with free access to food and water on a 12h light-dark cycle (7:00 AM/7:00 PM) in a temperature-controlled and ventilated room. All animals were handled during 5 consecutive days before testing which were conducted during the light phase of the cycle. All experiments were approved by the local Ethics Committee for Animal Experiments and were performed in accordance with the European Communities Council Directive of 1<sup>st</sup> February 2013 (2010/63/UE).

### *Surgery:*

Mice were anesthetized with a ketamine (1mg/Kg body weight) – xylazine (10mg/Kg body weight) solution and placed on stereotaxic frame. Two stainless-steel guide cannulae (26G, 8mm length) were implanted bilaterally 1mm above the dorsal hippocampus according to the following stereotaxic coordinates referenced in mm from the bregma (Paxinos and Franklin, 2001) (AP = -2mm; L =  $\pm$  1,4mm; V = -0,9mm). Guide cannulae were fixed in place with Ionoglass dental cement (R&S Paris, France). All operated mice were manipulated every day and were allowed to recover in their home cage during 7 days before the beginning of the experiments.

### *A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> preparation:*

A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> peptide (DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA) or A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> scramble peptide (KVKGLIDGAHIGDLVYEFMDSNSAIFREGVGAGHVHVAQVEF) (rPeptide, Bogart, Georgia, USA) solution were prepared as described previously (Brouillette et al., 2012; Broersen et al., 2011; Kuperstein et al., 2010). Vials containing 0.5mg of A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>-HFIP (1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-propanol) films were allowed to defrost at room temperature for 10 min. A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> was then dissolved in HFIP (Sigma-Aldrich) at a concentration of 1mg/mL. The HFIP was evaporated using a gentle stream of nitrogen gas and the peptide film was dissolved in 500 $\mu$ L of DMSO (Sigma-Aldrich). DMSO was totally removed of the solution by eluting the A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> peptide from a 5ml HiTrap desalting column (GE Healthcare) with 50mL of buffer (pH 7.5) containing (Tris50mM and EDTA 1mM). A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> peptide was then kept at -80°C in 30 $\mu$ L aliquots until use. The concentration of A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> in each sample was measured using a BCA protein assay kit (Pierce,USA).

*Electron microscopy analysis:*

The biophysical and biological properties of the A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> have been previously characterized (Kuperstein et al., 2010; Broersen et al., 2011; Brouillette et al., 2012). In our study, the preparation was analyzed using a transmission electron microscopy (TEM). Aliquots (5 $\mu$ L) of the A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> preparation were filed on carbon-coated grids (Euromedex) for 1 min. The liquid was absorbed with Whatman paper and 5 $\mu$ L of dye (2% of uranyle acetate) was applied on the solution. Then, the samples were dried at room temperature during 3 min. Images were acquired using a TEM (LaB6 JEOL JEM2100), and were recorded with a camera (4x4 Gatan). The samples of A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> solution were analyzed everyday from 24 h to 7 days after preparation. Each day, the preparation was analyzed 10, 30 or 60 minutes after thawing.

*A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> injections:*

Mice were bilaterally injected with either 0.2 $\mu$ g/ $\mu$ L of A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> peptide or A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> scramble peptide or an equal volume of buffer solution (Vehicle) into the CA1 field of the dorsal hippocampus (dCA1). Each injection consisted of the infusion of a total 0.5 $\mu$ L of solution per side at a rate of 0.1 $\mu$ L/min via stainless-steel cannulae (LeGuellec, FRANCE) connected to 1 $\mu$ L Hamilton syringe pump system. After injections, both cannulae were left in place for the next 5 min to prevent reflux of the solution. The injections were performed once daily for 4 consecutive days.

*Histology and determination of beta-amyloid deposits:*

The 10 month-old mice received 4 infusions of A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> into the dCA1 and were sacrificed 24 hours or 7 days after the last injection. Then the presence of A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> deposits at the time of memory testing was determined by immunohistochemistry using an antibody targeting the A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> peptide, as described below. Cresyl violet staining was performed to evaluate the potential neuronal death caused by A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> injections.

*Behavioural procedures:*

All behavioral experiments were performed on independent cohort of animals. The general design for these experiments is depicted in Fig. 1.

*Working memory tasks:* In a first procedure, working memory was tested in a sequential alternation task in a T-maze (Beracochea et al., 1987; Vandesquille et al., 2013; Dominguez et

al., 2014). In a second procedure, working memory was evaluated in a Morris water maze using a modified version of the delayed matching-to-place paradigm (Steele and Morris, 1999).

*Sequential alternation in a T-Maze:*

Mice were trained on a sequential alternation task over a series of consecutive trials run in T-maze. Indeed, to alternate over a series from trial to trial, animals have both to remember at a given N trial the choice made at the N-1 trial, and to reset interfering information (trials N-2, N-3,...) which is one of the main aspect of working memory (Kesner 2005). This task was chosen because the alternation behavior in mice is an innate tendency which does not require the use of any positive or negative reinforcement to emerge.

**Apparatus:** Sequential alternation was conducted in a T-maze constructed of grey Plexiglas which is composed by a stem and 2 goal arms (35x15x10) and a starting box which was separated (as well as the two arms) from the stem by vertical sliding doors. The opening and closing of the doors were automatically monitored by a computer. The apparatus was located at the centre of a room with various distal cues located on the wall and a light of 30 lux.

**Training sessions:** Mice were first habituated to the T-maze and distal cues during 2 consecutive days over a 10 min free exploration session (1session per day). The next day, animals performed a training session consisting in 7 successive trials separated by a 30 sec inter-trial interval (ITI); during this training session, mice were familiarized with the experimental procedure (opening and closing of the doors and confinement into the goal arms). For each trial, mice remained in the start-box for a 30 sec ITI. Then, the door was opened and the mouse was allowed to enter freely one of the two goal arms; the chosen arm was closed and the choice was recorded. After a 30 sec confinement period into the chosen arm, the mouse was removed and brought back to the start-box for a second trial identical to the first one and this procedure was repeated over the series of trials. To avoid olfactory cues in the maze, the apparatus was cleaned using 70% (v/v) ethanol between each trial.

**Test session:** The same general procedure as that used in the training session was implemented 24h later, except that the ITI was lengthened to 90 sec. The mean alternation rate was calculated and was expressed in percentage (number of alternation/number of trials X 100). To dissociate memory deficits from an eventual progressive loss of motivation to alternate over the series, an 8<sup>th</sup> trial was added to the series which was separated from the 7<sup>th</sup> trial by a shorter ITI (5 sec). All animals failing to alternate at the 8<sup>th</sup> trial were excluded.

*Delayed matching to place paradigm in the water maze:*

**Apparatus:** The experiment was conducted in a round tank (150cm diameter and 55cm height) filled with water ( $21^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) made opaque with white non toxic paint. Two platforms (13cm diameter) made of transparent Plexiglas were submerged 1cm below water surface. One of the platforms had a 10 cm height cue thereby indicating its location during the habituation session. Several distal cues were placed on the walls of the water maze room.

**Procedure:** Working memory was tested using a modified version of the delayed matching-to-place paradigm featuring an escape platform that was relocated for each daily trial set. On the first day of experiment, animals were subjected to a habituation session consisting in reaching a cued platform in a maximum of 90 sec. This session was composed by 4 consecutive trials in which the platform location and the starting points were changed among trials. This session was aimed at familiarizing animals with the water, the room and the platform. At the end of the habituation phase, working memory was evaluated. For that purpose, the procedure was composed of 4 trials per day during 8 consecutive days, in which the hidden platform location changed every day. A session was composed of four trials: a first trial (acquisition trial) in which animals had 90 sec to reach the escape platform; a second trial which was separated from the first one either by a 60 sec or a 30 min inter-trial interval (ITI) (this ITI was alternated each day during the 8-days-procedure); the remaining 3<sup>rd</sup> et 4<sup>th</sup> trials were separated by a 60 sec ITI. Overall, each animal performed 4 sessions with 60 sec ITI and 4 sessions with 30 min ITI between trial 1 and trial 2. Between each trial, animals were dried and returned to their home cage under a warming light pending the next trial. The starting points were randomized and were equidistant from the platform location. Several measures were used during testing. The average of escape latency ( $\text{sec} \pm \text{s.e.m}$ ) in each trial (1-4) was determined for each condition (60 sec and 30 min ITIs'), as well as the savings escape latency between trials 1 and 2 corresponding to  $[(\text{Latency trial 1} - \text{Latency trial 2}) / (\text{Latency Trial 1} + \text{Latency trial 2})]$  and the swim-speed average (cm/sec). Performances were recorded by a video camera located above the maze and interfaced with a computerized tracking system (ViewPoint, FRANCE).

**Long-term spatial memory:** This procedure was performed in the same T-maze as previously described above. Mice were submitted to the delayed alternation task using a forced-trial procedure (Dorey et al., 2012).



*Delayed alternation task:*

Initially, mice were submitted to 2 habituation sessions (1 session per day, 10 min) in which animals were allowed to explore the maze and to familiarize with the environment. They were then given a training session as described above for the sequential alternation task. The next day, during the acquisition phase, animals were forced to enter twice the same goal arm of the maze, the access to the other arm being blocked by the sliding door. The two forced trials were separated by a 30 sec ITI. Mice were subjected 24h later to the test phase in which they were allowed to enter freely in one of the two goal arms. The correct choice (alternation behavior) is to enter in the arm opposite to that entered the day before, during the acquisition session. Animals remained for 30 sec in the chosen arm and were again returned during 30 sec to the starting box for a second free choice trial. This additional trial was aimed at determining whether the intrinsic psychomotor ability and motivation of mice to alternate were not impaired by the treatments, so that any deficits observed at the previous test trial cannot be ascribed to psychomotor or motivational impairments. One week later, mice were subjected to the same experimental conditions except that the blocked arm of the acquisition phase was the opposite to that of the first session. Thus, each mouse served as its own control to avoid a place preference bias.

*Immunohistochemistry and quantification:*

Animals were anesthetized with an i.p injection of pentobarbital (100mg/kg) and perfused transcardially with ice-cold 4% paraformaldehyde in 0.1M phosphate buffer (PB). Brain were removed and post-fixed overnight in the same fixation solution. Then brains were coronally-sectioned (40 $\mu$ m) on a vibratome (Leica) and kept at -20°C in a 30% ethylene glycol, 30% glycerol, 0.1M PB solution until immunohistochemistry experiments as previously described (Dagnas et al., 2013). Free-floating sections were incubated for 48h with either rabbit monoclonal antibody anti-A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> (1:1000; Invitrogen) or rabbit polyclonal antibody GFAP (H-50) (1:500; Santa Cruz) or rabbit polyclonal anti-phospho(Thr202/Tyr204)-ERK1/2 (1:2000; Cell Signaling). Sections were then incubated with a biotinylated goat anti-rabbit IgG secondary antibody (1:2000; Jackson immunoresearch) for 2h and then incubated with an avidin-biotinylated horseradish peroxidase complex (ABC complex; Vectastain Elite kit, Vector Laboratories). The peroxylase reaction was visualized in a Tris 0.1M solution containing diaminobenzidine

tetrahydrochloride (DAB) and hydrogen peroxide except for the GFAP antibody for which we used a DAB Nickel peroxydase substrate kit (Vector Laboratory). Sections were mounted on gelatin-coat slides, dehydrated and coverslipped. All images were acquired using an imaging analysis system (Biocom, Visiolab 2000, V4.50). The numbers of positive nuclei/mm<sup>2</sup> were quantified for pERK in the CA3 field (dCA3) and dentate gyrus (DG) of the dorsal hippocampus, in the prelimbic (PL) and infralimbic (IL) areas of the prefrontal cortex, in the dorsomedial (MS) part of the septum and in the lateral nuclei of the amygdala (LA) according to Franklin and Paxinos (2001).

*Data analysis:*

Statistical analyses were performed using the Statview 5.01 software (SAS Institute). The data were analyzed using one or two-way factorial analyses of variance (ANOVA), followed when adequate, by post hoc tests (Fisher's PLSD). Concerning the spontaneous alternation procedure, the comparison of performances with chance were calculated with one-sample *t* test (with hypothesized mean = chances level = 50% for correct responses). The data were presented as the mean  $\pm$  S.E.M and were considered to be statistically significant when  $p < 0.05$ .

*Experimental designs for behavioral experiments*

Experiment 1: A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> injections into the dCA1 induced working memory deficits in a sequential alternation task.

Cohorts of 10-month-old mice received intra-dCA1 injections of vehicle ( $n = 18$ ), A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> ( $n = 10$ ) or A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> scramble ( $n = 10$ ) during 4 consecutive days. Seven days after the last injection, working memory performances were evaluated in a sequential alternation task. Mice from the vehicle and A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> groups were sacrificed 30 min after the beginning of the test session and pERK1/2 immunohistochemistry were performed. Two additional home cage control groups injected with vehicle ( $n = 5$ ) or A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> ( $n = 5$ ) were sacrificed directly from their home cage for immunohistochemistry analyses.

Experiment 2: A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> injections into the dCA1 induced working memory deficits in a delayed-matching to place paradigm.

Cohorts of 10-month-old mice received intra-dCA1 injections of vehicle ( $n = 9$ ), A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> ( $n = 8$ ) during 4 consecutive days. Seven days after the last injection, working memory was evaluated in a delayed-matching to place paradigm in a water maze.

Experiment 3: Long-term spatial memory was spared by A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> injections into the dCA1.

Cohorts of 10-month-old mice received intra-dCA1 injections of vehicle (n = 7), A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> (n = 13) during 4 consecutive days. Seven days after the last injection, long-term spatial memory performances were evaluated in a delayed alternation procedure in a T-maze.

## Results

### Histological characteristics of the *in vivo* model after 4 consecutive intra-dCA1 injections of A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> peptide

#### *A) Temporal profile of soluble A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> injected solution*

Our aim was to investigate the potential neurotoxicity of A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> when infused into the dCA1. In order to evaluate the aggregation state of A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> in our sample preparation, we assessed an analysis of the A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> solution using TEM (Fig. 2A). Examination of the amyloid peptide solution from day 1 to day 4 indicated that the preparation of soluble A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> used was almost exclusively composed of low-molecular-weight A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> species when samples were analyzed 10 and 30 min after thawing. In contrast, when samples were analyzed 1 h after thawing, the A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> solution presented a high degree of aggregation. Moreover, 7 days after preparation, A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> solution exhibited almost exclusively fibrillar and aggregated species. These results led us to use A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> preparation only 4 days after preparation and, more precisely, 20 min after thawing to be sure that solution contained a large majority of low-molecular-weight species of A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>.

#### *B) Determination of A $\beta$ deposits after 4 consecutive injections of A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> into the dCA1*

Assessment of A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> peptide deposition in the brain of 10 month-old mice was analyzed, using an antibody which recognizes A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>, either 24 hours or 7 days after the last injection using a measure of optic density (OD). As depicted by Fig. 2B, the staining of A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> deposits was restricted to the dHPC and more specifically in the DG. Otherwise, one-way ANOVA revealed that A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> deposition was significantly reduced in mice sacrificed 7 days after the last injection as compared to 24h-injected mice ( $F_{(1,8)} = 27.047$  ;  $p < 0.001$ ) (Fig. 2C). Consistently with the A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> deposition in the DG, cresyl violet staining revealed a neuronal death restricted to the DG 7 days after the last injection of A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> (Fig. 2D). These results suggest that intra-dCA1 injections of oligomeric assemblies of A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> was able to induce specific and localized neuronal death.

## **Behavior**

### **Intra-hippocampal injections of A $\beta$ <sub>o(1-42)</sub> disrupt working memory**

*Experiment 1: Intra-dCA1 A $\beta$ <sub>o(1-42)</sub> injections impair working memory performance in the sequential alternation task*

Fig. 3A (left) shows that all mice performed similarly during the training session when ITI was 30 sec. Specifically, all performances expressed in percentage of alternation rates were significantly above chance level (50%) regardless of groups (Vehicle:  $73.814 \pm 2.278\%$ ;  $t(13) = 10.452$ ;  $p < 0.001$ ; A $\beta$ <sub>o(1-42)</sub>:  $70.020 \pm 2.213\%$ ;  $t(9) = 9.045$ ;  $p < 0.001$ ; A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>scramble:  $75.000 \pm 2.767\%$ ;  $t(9) = 9.036$ ;  $p < 0.001$ ). One-way ANOVA confirmed no significant between-groups difference ( $F_{(2,31)} = 1.031$ ;  $p = 0.36$ ).

In contrast, during test session (Fig. 3A right), when the ITI was increased to 90 sec, both Vehicle and A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>scramble groups exhibited performances significantly above chance (Vehicle:  $76.179 \pm 2.875\%$ ;  $t(13) = 9.105$ ;  $p < 0.001$ ; A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>scramble:  $73.350 \pm 3.678\%$ ;  $t(9) = 6.348$ ;  $p < 0.001$ ) whereas the A $\beta$ <sub>o(1-42)</sub> group responded at chance ( $56.640 \pm 4.439\%$ ;  $t(9) = 1.496$ ;  $p = 0.16$ ). ANOVA yielded a significant effect of groups ( $F_{(2,31)} = 8.364$ ;  $p = 0.001$ ) and further post-hoc comparisons confirmed that performances in the A $\beta$ <sub>o(1-42)</sub> group ( $56.64 \pm 4.439\%$ ) were significantly lower than those of Vehicle ( $76.179 \pm 2.875\%$ ) and A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>scramble ( $73.35 \pm 3.678\%$ ) groups (respectively:  $p < 0.001$  and  $p = 0.004$ ), which otherwise did not differ from each other ( $p = 0.57$ ). An additional analysis per block of two consecutive trials during the test session (Fig. 3B) showed a significant between-groups difference ( $F_{(2,31)} = 11.924$ ;  $p < 0.001$ ) but no significant block difference ( $F_{(2,62)} = 2.010$ ;  $p = 0.14$ ) nor groups x blocks interaction ( $F_{(4,62)} = 1.09$ ;  $p = 0.36$ ). However, the A $\beta$ <sub>o(1-42)</sub> group exhibited qualitatively lower alternation performances on the last two blocks of trials as compared to the Vehicle and A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>scramble groups [Block 2: A $\beta$ <sub>o(1-42)</sub>:  $45.000 \pm 8.975\%$ ; Vehicle:  $67.857 \pm 8.463\%$  and A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>scramble:  $70.000 \pm 8.165\%$ ] and [Block 3: A $\beta$ <sub>o(1-42)</sub>:  $40.000 \pm 12.472\%$ ; Vehicle:  $82.143 \pm 6.645\%$ ; A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>scramble:  $65.000 \pm 7.638\%$ ], whereas no difference was observed on the first block [Block 1: (A $\beta$ <sub>o(1-42)</sub>:  $75.000 \pm 8.333\%$  versus Vehicle:  $78.571 \pm 6.863\%$  and A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>scramble:  $75.000 \pm 13.437\%$ ].

Interestingly, all groups exhibited alternation rate significantly above chance at the 8<sup>th</sup> trial of the series, when ITI was shortened to 5 sec ( $p < 0.01$  in all analyses) and which did not differed between them ( $p > 0.5$  in all analyses).

Taken together, the whole set of results indicate that the intra-dCA1 injections of A $\beta$ <sub>0(1-42)</sub> peptide but not of the Vehicle and A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> scramble peptide led to delay-dependent working memory impairment tested in the sequential alternation task.

*Experiment 2: A $\beta$ <sub>0(1-42)</sub> injections into the dCA1 induced working memory deficits in a delayed-matching to place paradigm.*

In order to confirm the results obtained with the sequential alternation task, we performed a second test based on the delayed matching to place paradigm, which was able to evaluate working memory performances of mice.

Fig. 4 shows the impact of local intra-dCA1 infusions of A $\beta$ <sub>0(1-42)</sub> in mice performing spatial working memory in the water maze 7 days after the last injection, compared with mice infused with Vehicle. As depicted in fig. 4A, all mice acquired similarly the spatial information under the ITI 60 sec condition regardless of treatment. An ANOVA on mean latency to reach the platform confirmed no main effect of group (Vehicle vs A $\beta$ <sub>0(1-42)</sub>:  $F_{(1,15)} = 0.629$ ;  $p = 0.44$ ), a significant trial effect ( $F_{(3,45)} = 33.626$ ;  $p < 0.001$ ) and no significant group x trial interaction ( $F_{(3,45)} = 48.215$ ;  $p = 0.76$ ), confirming that all mice acquired the task at the same rate. However, when the ITI between trial 1 and trial 2 was increased from 60 sec to 30 min (Fig. 4B), the one factor ANOVA with repeated measures yielded a significant effect of trials ( $F_{(3,45)} = 21.176$ ;  $p < 0.001$ ) and a significant group x trial interaction ( $F_{(3,45)} = 3.253$ ;  $p = 0.03$ ) but no significant effect of groups ( $F_{(1,15)} = 3.396$ ;  $p = 0.085$ ). The significant group x trial interaction relied on the fact that A $\beta$ <sub>0(1-42)</sub> treated animals exhibited a significantly higher escape latency relative to vehicles at trial 2 (ITI = 30 min,  $p < 0.001$ ) but not at trials 3 and 4, as the ITI was shortened to 60 sec ( $p = 0.16$  and  $p = 0.79$  respectively). Importantly, the average swim speed was similar between Vehicle ( $16.494 \pm 0.671$  cm.s<sup>-1</sup>) and A $\beta$ <sub>0(1-42)</sub> ( $15.069 \pm 0.597$  cm.s<sup>-1</sup>) groups ( $p = 0.13$ ) indicating no effect of treatment on swim speed. The results were further analysed with the “saving” parameter (Fig. 4C). The ANOVA analysis with repeated measures showed a significant main effect of group ( $F_{(1,15)} = 5.007$ ;  $p = 0.04$ ), a significant delay effect ( $F_{(1,15)} = 24.013$ ;  $p < 0.001$ ), as well as a significant groups x delay interaction ( $F_{(1,15)} = 11.832$ ;  $p = 0.003$ ). More specifically, the analysis of “saving”

showed that A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>-treated group does not exhibit saving as compared to control group at the 30 min ITI ( $-0.4 \pm 0.038$  versus  $0.214 \pm 0.038$  respectively;  $p < 0.001$ ). Thus, these results indicated that intra-dCA1 injections of A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> led to delayed-dependent working memory impairment which was absent when ITI was shortened.

*Experiment 3: Long-term spatial memory was spared by A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> injections into the dCA1.*

We then examined the impact of intra-dCA1 injections of A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> peptide on a long-term spatial memory using the delayed alternation task in the T-maze. Performances during the training session (ITI = 30sec) were significantly above chance (50%; data not shown) in Vehicle and A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> groups ( $p < 0.01$  in both comparisons) and the one-way ANOVA confirmed no significant group effect ( $p > 0.10$ ) (Fig. 5).

Since the alternation performances were similar during the two test sessions, ( $p > 0.1$ ), they were pooled for the next statistical analyses. During testing session, as shown in Fig. 5 alternation performances in the Vehicle and A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> groups were significantly above chance level (Vehicle:  $77.12 \pm 2.335\%$ ;  $t(9) = 11.614$ ;  $p < 0.001$ ; A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>:  $69.374 \pm 3.299\%$ ;  $t(13) = 5.873$ ;  $p < 0.001$ ). Again, the ANOVA analysis performed on these data showed no significant between-group difference ( $F_{(1,22)} = 3.115$ ;  $p = 0.09$ ). Interestingly, both groups alternated significantly above chance level (50%) at the short-term trial (5 sec) of the test session (Fig. 5) (Vehicle:  $80 \pm 13.333\%$ ;  $t(9) = 2.250$ ;  $p < 0.05$ ; A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>:  $85.714 \pm 9.705\%$ ;  $t(13) = 3.680$ ;  $p < 0.01$ ) and no significant between-groups performance was evidenced ( $F_{(1,22)} = 0.126$ ;  $p = 0.72$ ) indicating that the A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> injection did not affect the motivation to alternate. These results indicated that local intra-dCA1 injections of A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> did not impact long-term spatial memory.

### **Intra-hippocampal injections of A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> disrupt patterns of test-induced ERK 1/2 phosphorylation in the hippocampo-prefrontal and septo-hippocampal pathways.**

*Effects of A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> injections on patterns of activated/phosphorylated ERK 1/2 (pERK) in the dorsal hippocampus after the spontaneous alternation test*

We compared the patterns of activated/phosphorylated ERK1/2 (pERK) in the dorsal hippocampus of Vehicle and A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> mice sacrificed 30min after the beginning of the sequential alternation testing session, relative to respective control Home-Cage mice. The analyses were performed on the DG and CA3 but not on the CA1 which showed no activation

of ERK in each group. Two-way ANOVA evidenced a significant effect of the test ( $F_{(1,25)} = 17.558$  ;  $p < 0.001$ ), of  $A\beta_{O(1-42)}$  ( $F_{(1,25)} = 19.735$  ;  $p < 0.001$ ) and a significant interaction test  $x A\beta_{O(1-42)}$  ( $F_{(1,25)} = 24.089$  ;  $p < 0.0001$ ) in DG. As shown in Fig. 6A, the interaction test  $x A\beta_{O(1-42)}$  was characterized by a significant increase of pERK1/2 in Trained-Vehicle group compared to Home Cage-Vehicle group ( $p < 0.001$ ) whereas pERK1/2 levels were similar between Trained- $A\beta_{O(1-42)}$  and matched Home Cage ( $p = 0.23$ ). *Post hoc* analyses confirmed that Trained-Vehicle group exhibited significantly higher levels of pERK1/2 compared to Trained- $A\beta_{O(1-42)}$  ( $p < 0.0001$ ).

In the CA3, the two-way ANOVA indicated a significant test effect ( $F_{(1,24)} = 87.348$  ;  $p < 0.0001$ ) but no  $A\beta_{O(1-42)}$  effect ( $F_{(1,24)} = 0.092$  ;  $p = 0.76$ ) nor significant test  $x A\beta_{O(1-42)}$  interaction ( $F_{(1,24)} = 0.981$  ;  $p = 0.33$ ). As depicted by the Fig. 6B the test effect is characterized by a significant increase of pERK1/2 levels in Trained-Vehicle and Trained- $A\beta_{O(1-42)}$  compared to matched Home cage groups (both  $p < 0.0001$ ). Moreover, no  $A\beta_{O(1-42)}$  effect was observed in both Home cage and Trained groups (respectively  $p = 0.32$  and  $p = 0.37$ ).

Taken together, our data indicated that  $A\beta_{O(1-42)}$  infusions into the dCA1 specifically affects levels of pERK1/2 in the DG but neither in the CA3 nor in the dCA1.

#### *Distinct patterns of pERK1/2 in other structures related to the hippocampus after the sequential alternation test*

The numbers of pERK1/2 positive cells were also quantified in the medial prefrontal cortex and more particularly in the PL and the IL cortices, in the septum (MS) and in the amygdale (LA) to evaluate whether intra-dCA1 infusions of  $A\beta_{O(1-42)}$  specifically in the dHPC resulted in alterations in working memory related decrease in pERK in other structures (Fig. 7). Two-way ANOVAs on pERK data from each structure revealed significant test effects [all  $F > 50$ ; all  $p < 0.001$ ] but no  $A\beta_{O(1-42)}$  effects [PL:  $F_{(1,25)} = 4.117$  ;  $p = 0.053$  ; IL:  $F_{(1,25)} = 0.003$  ;  $p = 0.95$  ; MS:  $F_{(1,25)} = 4.01$  ;  $p = 0.056$  ; LA:  $F_{(1,24)} = 0.776$  ;  $p = 0.38$ ]. In the PL and MS, two-way ANOVAs evidenced a significant test  $x A\beta_{O(1-42)}$  interaction [PL:  $F_{(1,25)} = 7.480$  ;  $p = 0.01$  ; MS:  $F_{(1,25)} = 8.680$  ;  $p = 0.01$ ] which relied on the fact that pERK1/2 increased in Trained-Vehicle compared to respective Home cage (PL:  $p = 0.003$ ; MS:  $p < 0.0001$ ) and that pERK1/2 levels were significantly lower in Trained- $A\beta_{O(1-42)}$  compared to Trained-Vehicle (both  $p < 0.001$ ). In contrast, no significant test  $x A\beta_{O(1-42)}$  interactions were observed in IL and LA [IL:  $F_{(1,25)} = 0.045$  ;  $p = 0.83$  ; LA:  $F_{(1,24)} = 0.783$  ;  $p = 0.38$ ]. Further *post-hoc*



analyses confirmed no group difference between Trained- $A\beta_{(1-42)}$  and Trained-Vehicle groups in these areas (both  $p > 0.5$ ).

The whole set of results indicated that intra-dCA1 injections of  $A\beta_{(1-42)}$  led to pERK1/2 impairment specifically in the PL and the MS, while sparing the IL and the LA. These data suggest that local intra-dCA1 injections of  $A\beta_{(1-42)}$  is sufficient to drive changes in the PL and MS, two areas implicated in working memory.

## Discussion

We found that A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> infusions into the dCA1 induced strong deficits in working memory but not in spatial memory when mice were tested 7 days after the last injection. Then, A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> infused into the dCA1 was shown to impede the sequential alternation-induced activation of ERK1/2 in several brain structures, including the dorsal hippocampus, the pre-limbic cortex and the medial septum. Because the cognitive and molecular alterations were observed at a time at which amyloid loads were no longer visible in the dorsal hippocampus we reasoned the local infusion of A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> has induced long-lasting molecular and cellular alterations including neuro-inflammatory processes (see supplementary data) that echoed on memory function.

As memory deficit constitutes the core symptom of AD, previous studies have used different animal models of AD to investigate the memory impairments that can occur during the development of the disease. The effect of A $\beta$  peptides on different forms of memory using intracerebral injections have been contradictory and appear to depend on the site of injection, the nature of the peptide and the type of memory which was taxed (for review: Chambon et al., 2011; Webster et al., 2014). In studies with transgenic models of AD, results varied depending on age, strain and memory task. Moreover, there is no clear relationship between the appearance of amyloid plaques and working or episodic memory impairment (for review: Hall and Roberson, 2012). For example, working memory impairments in T/Y maze alternation or radial arm maze were shown before the appearance of A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> plaques in Tg2576 mice (King et al., 1999; Arendash et al., 2004; Ohno et al., 2004), and J20 mice (Lustbader et al., 2004) while no deficits were found for PDAPP mice (Nilsson et al., 2004), the 5xFAD (Oakley et al., 2006; Shukla et al., 2013) or the 3xTg mice (Carroll et al., 2007).

Numerous studies have addressed the effects of central A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> infusion on learning and memory (Chambon et al., 2011) but no consistent results have emerged (Ghasemi et al., 2014). While some studies reported spatial memory impairment in water maze test after A $\beta$  infusion (Majlessi et al., 2012), some others failed to show memory impairments. So that some authors tried to potentiate A $\beta$  toxicity with additional brain injuries such as ischemia (Watanabe et al., 2008), co-injection with ibotenic acid (Morimoto et al., 1998; Hruska et al., 2007) or co-injection with dexamethasone (Li et al., 2012; Yao et al., 2011). Among the few studies that have investigated the impact of local injections of A $\beta$  into the dorsal hippocampus, most of them were infusing aggregated forms of A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>. Looking at short-term or working memory these studies revealed impairment for spatial and non-spatial information

when the animals were tested at delayed time-points after  $A\beta_{(1-42)}$  infusion (Winkler et al., 1994; Hruska et al., 2007; Christensen et al., 2008). However, the aim of our experiments was to target an earlier stage of the disease by focusing on the oligomeric species of  $A\beta$  that have been hypothesized to be responsible for the neurotoxic effect of the peptide (Hass and Selkoe, 2007; Viola and Klein, 2015).

This is why we infused small oligomeric  $A\beta_{(1-42)}$  peptide once daily for four consecutive days into the dorsal hippocampus and tested the animals 7 days after the last injection when the peptides are no longer present. Interestingly, our data clearly show no impairment of spatial memory per se (short- or long-term) but of working memory-related processes. As illustrated in Figure 3B, the impairment in the T-maze alternation task appears to be caused by proactive interferences as performances of experimental animals were decreasing dramatically only from the second trial block. This impairment is somewhat reminiscent of previous studies from our group having shown higher sensitivity to proactive interferences in aged mice or mice intoxicated with chronic alcohol consumption that might be related to hippocampal dysfunction (Dominguez et al., 2014). Although poorly investigated this higher sensitivity in proactive interference might constitute a first sign of cognitive decline in AD as it has been suggested by recent clinical data on amnesic MCI (Crocco et al., 2014).

The maintenance of information in memory over a short period of time is another aspect of working memory and this process which allows the binding of the different features of the learning situation, has been claimed to be the first to be impaired as a result of AD (Parra et al., 2009; 2010). This binding process which relies on the hippocampus (Parra et al., 2010) could be investigated in animals with the delayed matching to place task (DMTP task) in which the spatial information needs to be held in memory during a certain period of time until its use. The infusion of  $A\beta_{(1-42)}$  into the dorsal hippocampus resulted in a clear time-dependent impairment when the ITI was increased from 60s to 30mn. Therefore, by analogy with human studies it might be speculated that platform-location binding impairment in this spatial working memory task can be specifically related to pathological changes induced by  $A\beta_{(1-42)}$  injection. Again, this might be a sensitive measure in preclinical stages of the disease (Parra et al., 2009; 2010; Pertzov et al., 2015).

The delayed spatial alternation task is showing that long-term spatial memory was not affected by the intra-hippocampal injection of  $A\beta_{(1-42)}$ . This is somewhat unexpected because the hippocampus is strongly involved in the different phases of spatial memory (Morris et al., 1982; Riedel et al., 1999; McGregor et al., 2004; Martin and Clark, 2007). Parsimonious

explanations would be to consider that either the A $\beta$  toxicity is not equivalent to a lesional effect or the extent of hippocampal damages was not large enough to impede spatial learning (Moser et al., 1993). More likely, the neuropathological mechanisms induced by the A $\beta$  infusion were too premature to alter spatial learning in tasks that are not very challenging. In support of this assumption it has been shown in Tg2576 mice that place cells degradation was observed at 16 but not at 3 months of age (Cacucci et al., 2008). No intermediary ages were studied but in the same mouse line, although synaptic plasticity and spine density were decreased in 4-5 month-old mice (Jacobsen et al., 2006) impairment in spatial learning was observed only from 6-7 months of age and accumulation of A $\beta$ 40 and A $\beta$ 42 appeared at 6-9 months (Lee and Han, 2013). Therefore, the lack of spatial memory impairment in the A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>-treated mice might correspond to a too early stage of the neuropathological alterations caused by A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> injections. This has also been very recently shown that the spatial deficits appearing in the earliest stages of AD (Serino et al., 2014) might be related to reduced grid cell-like representations in the entorhinal cortex (Kunz et al., 2015). Although we show in this report that the intra-hippocampal A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> injections had functional impact at a brain structure network we do not know whether the entorhinal cortex was affected.

The aim by using the immunohistochemistry with ERK1/2 was twofold: first, to analyze the A $\beta$  influence on ERK1/2 activation and therefore, on memory formation; second, to pinpoint at a network level the consequences of hippocampal dysfunction. It is well documented that the activation of MAPK/ERK signaling cascade reflects the critical participation of different brain structures in memory formation (Dineley et al., 2002, 2007; Westerman et al., 2002; Sweatt, 2004; Trifilieff et al., 2006, 2007; Hort et al., 2007; Hoefer et al., 2008; Kim and Choi, 2010). Our results indicate that the spontaneous sequential alternation induced ERK1/2 activation in all the investigated structures except in the area CA1. However, working memory impairments caused by local intra-dCA1 injections of A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> were associated with blockade of p-ERK1/2 immunoreactivity only in some brain structures that may constitute a functional network. The experiments were conducted 7 days after the last A $\beta$  injection when most of the peptide has already been metabolized. This suggests that the absence of ERK1/2 activation corresponds to synaptic and plasticity detrimental effects that have been triggered by the direct impact of A $\beta$  on cellular signaling. In indirect support of these data, soluble oligomers have been shown to directly interfere with the NMDA/ERK/CREB signaling pathway by blunting its activity in cortical neurons of Tg2576 mice and in primary hippocampal neurons (Ma et al., 2007). However, apparent conflicting reports have shown that ERK1/2 activation induced in the amygdala by cued fear

conditioning was even more stimulated in APP transgenic mice (España et al., 2010). As a consequence, to better elucidate the mechanisms upstream to the delayed effects we found, it would be valuable to measure testing-induced ERK1/2 activation immediately after the last A $\beta$  intra-hippocampal infusion.

The absence of testing-induced activation of ERK1/2 in the A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>-treated mice was observed only in a subset of the selected brain structures, namely the hippocampus with the dentate gyrus, the medial septum and the pre-limbic cortex. Interestingly, these brain structures are anatomically and functionally linked (Thierry et al., 2000; Vertes 2004; Spellman et al., 2015). It has been recently shown that the hippocampal-prefrontal interplay during spatial working memory encoding was mediated by gamma-frequency synchrony between the two structures (Spellman et al., 2015). In addition, the well documented septo-hippocampal axis is continuously receiving more evidence demonstrating the critical role played by the medial septum in the regulation of hippocampal spatial representation (Mamad et al., 2015). Further, ERK1/2 activation was not affected in the infra-limbic cortex and the lateral amygdala of the A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>-treated mice. These two brain structures are proposed to be part of another anatomical and functional system involved in the development of habits and in autonomic activity (Killcross and Coutureau, 2003; Vertes, 2004). The latter system is not supposed to be deeply involved in working memory. Altogether, our results support the view of an impairment of a specific neuronal network including the medial septum, the hippocampus and the pre-limbic cortex in A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>-injected mice, and suggest that A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>-associated working memory impairments may be related to the functional disruption of this network. Despite its coherence this somewhat speculative interpretation needs further experimental confirmations.

In conclusion, our results indicate that A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> injections into the dCA1 lead to impairment of different aspects of working memory associated with ERK1/2 dysfunction in a brain circuitry involving the hippocampus, medial septum and pre-limbic cortex. Moreover, these cognitive and molecular alterations were observed 7 days after the last injection, at a time where amyloid deposits were no longer observed. These results lead us to suggest that the *in vivo* mouse model of AD based on 4 consecutive intra-dCA1 injections of A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> could constitute a valuable tool to study the A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> impact in the hippocampus which could characterize the very early stage of AD. Moreover, this model gives us new insights on the way local A $\beta$ -induced neuropathology would spread to a neuronal network. This may allow the implementation of new therapeutic strategies in order to prevent cognitive deficits related to this pathology.

## References

- Adams JP, Sweatt JD (2002) Molecular psychology: roles for the ERK MAP kinase cascade in memory. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 42:135-163.
- Andreasen N, Blennow K (2005) CSF biomarkers for mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease. *Clin Neurol Neurosurg* 107:165-173.
- Andreasen N, Zetterberg H (2008) Amyloid-related biomarkers for Alzheimer's disease. *Curr Med Chem* 15:766-771.
- Arendash GW, Lewis J, Leighty RE, McGowan E, Cracchiolo JR, Hutton M, Garcia MF (2004) Multi-metric behavioral comparison of APP<sup>sw</sup> and P301L models for Alzheimer's disease: linkage of poorer cognitive performance to tau pathology in forebrain. *Brain Res* 1012:29-41.
- Barthet G, Georgakopoulos A, Robakis NK (2012) Cellular mechanisms of gamma-secretase substrate selection, processing and toxicity. *Prog Neurobiol* 98:166-175.
- Benilova I, Karran E, De Strooper B (2012) The toxic Aβ oligomer and Alzheimer's disease: an emperor in need of clothes. *Nat Neurosci* 15:349-357.
- Beracochea D, Lescaudron L, Tako A, Verna A, Jaffard R (1987) Build-up and release from proactive interference during chronic ethanol consumption in mice: a behavioral and neuroanatomical study. *Behav Brain Res* 25:63-74.
- Bondi MW, Jak AJ, Delano-Wood L, Jacobson MW, Delis DC, Salmon DP (2008) Neuropsychological contributions to the early identification of Alzheimer's disease. *Neuropsychol Rev* 18:73-90.
- Braak H, Braak E (1991) Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* 82:239-259.
- Broersen K, Jonckheere W, Rozenski J, Vandersteen A, Pauwels K, Pastore A, Rousseau F, Schymkowitz J (2011) A standardized and biocompatible preparation of aggregate-free amyloid beta peptide for biophysical and biological studies of Alzheimer's disease. *Protein Eng Des Sel* 24:743-750.

- Brouillette J, Caillierez R, Zommer N, Alves-Pires C, Benilova I, Blum D, De Strooper B, Buee L (2012) Neurotoxicity and memory deficits induced by soluble low-molecular-weight amyloid-beta1-42 oligomers are revealed in vivo by using a novel animal model. *J Neurosci* 32:7852-7861.
- Cacucci F, Yi M, Wills TJ, Chapman P, O'Keefe J (2008) Place cell firing correlates with memory deficits and amyloid plaque burden in Tg2576 Alzheimer mouse model. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:7863-7868.
- Carroll JC, Rosario ER, Chang L, Stanczyk FZ, Oddo S, LaFerla FM, Pike CJ (2007) Progesterone and estrogen regulate Alzheimer-like neuropathology in female 3xTg-AD mice. *J Neurosci* 27:13357-13365.
- Chambon C, Wegener N, Gravius A, Danysz W (2011) Behavioural and cellular effects of exogenous amyloid-beta peptides in rodents. *Behav Brain Res* 225:623-641.
- Cho HJ, Kim SK, Jin SM, Hwang EM, Kim YS, Huh K, Mook-Jung I (2007) IFN-gamma-induced BACE1 expression is mediated by activation of JAK2 and ERK1/2 signaling pathways and direct binding of STAT1 to BACE1 promoter in astrocytes. *Glia* 55:253-262.
- Christensen R, Marcussen AB, Wortwein G, Knudsen GM, Aznar S (2008) Abeta(1-42) injection causes memory impairment, lowered cortical and serum BDNF levels, and decreased hippocampal 5-HT(2A) levels. *Exp Neurol* 210:164-171.
- Cleary JP, Walsh DM, Hofmeister JJ, Shankar GM, Kuskowski MA, Selkoe DJ, Ashe KH (2005) Natural oligomers of the amyloid-beta protein specifically disrupt cognitive function. *Nat Neurosci* 8:79-84.
- Crocco E, Curiel RE, Acevedo A, Czaja SJ, Loewenstein DA (2014) An evaluation of deficits in semantic cueing and proactive and retroactive interference as early features of Alzheimer's disease. *Am J Geriatr Psychiatry* 22:889-897.
- Dagnas M, Guillou JL, Prevot T, Mons N (2013) HDAC inhibition facilitates the switch between memory systems in young but not aged mice. *J Neurosci* 33:1954-1963.

- Dineley KT, Bell KA, Bui D, Sweatt JD (2002) beta -Amyloid peptide activates alpha 7 nicotinic acetylcholine receptors expressed in *Xenopus oocytes*. *J Biol Chem* 277:25056-25061.
- Dineley KT, Hogan D, Zhang WR, Taglialatela G (2007) Acute inhibition of calcineurin restores associative learning and memory in Tg2576 APP transgenic mice. *Neurobiol Learn Mem* 88:217-224.
- Dineley KT, Westerman M, Bui D, Bell K, Ashe KH, Sweatt JD (2001) Beta-amyloid activates the mitogen-activated protein kinase cascade via hippocampal alpha7 nicotinic acetylcholine receptors: In vitro and in vivo mechanisms related to Alzheimer's disease. *J Neurosci* 21:4125-4133.
- Dominguez G, Dagnas M, Decorte L, Vandesquille M, Belzung C, Beracochea D, Mons N (2014) Rescuing prefrontal cAMP-CREB pathway reverses working memory deficits during withdrawal from prolonged alcohol exposure. *Brain Struct Funct*.
- Dorey R, Pierard C, Chauveau F, David V, Beracochea D (2012) Stress-induced memory retrieval impairments: different time-course involvement of corticosterone and glucocorticoid receptors in dorsal and ventral hippocampus. *Neuropsychopharmacology* 37:2870-2880.
- Dorey R, Pierard C, Shinkaruk S, Tronche C, Chauveau F, Baudonnat M, Beracochea D (2011) Membrane mineralocorticoid but not glucocorticoid receptors of the dorsal hippocampus mediate the rapid effects of corticosterone on memory retrieval. *Neuropsychopharmacology* 36:2639-2649.
- Espana J, Gimenez-Llort L, Valero J, Minano A, Rabano A, Rodriguez-Alvarez J, LaFerla FM, Saura CA (2010) Intraneuronal beta-amyloid accumulation in the amygdala enhances fear and anxiety in Alzheimer's disease transgenic mice. *Biol Psychiatry* 67:513-521.
- Frasca G, Carbonaro V, Merlo S, Copani A, Sortino MA (2008) Integrins mediate beta-amyloid-induced cell-cycle activation and neuronal death. *J Neurosci Res* 86:350-355.
- Ghasemi R, Zarifkar A, Rastegar K, Maghsoudi N, Moosavi M (2014) Repeated intra-hippocampal injection of beta-amyloid 25-35 induces a reproducible impairment of



- learning and memory: considering caspase-3 and MAPKs activity. *Eur J Pharmacol* 726:33-40.
- Haass C, Selkoe DJ (2007) Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid beta-peptide. *Nat Rev Mol Cell Biol* 8:101-112.
- Hall AM, Roberson ED (2012) Mouse models of Alzheimer's disease. *Brain Res Bull* 88:3-12.
- Hardy J, Selkoe DJ (2002) The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science* 297:353-356.
- Hoefer M, Allison SC, Schauer GF, Neuhaus JM, Hall J, Dang JN, Weiner MW, Miller BL, Rosen HJ (2008) Fear conditioning in frontotemporal lobar degeneration and Alzheimer's disease. *Brain* 131:1646-1657.
- Hort J, Laczó J, Vyhnaček M, Bojar M, Bures J, Vlcek K (2007) Spatial navigation deficit in amnesic mild cognitive impairment. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:4042-4047.
- Hruska Z, Dohanich GP (2007) The effects of chronic estradiol treatment on working memory deficits induced by combined infusion of beta-amyloid (1-42) and ibotenic acid. *Horm Behav* 52:297-306.
- Jacobsen JS, Wu CC, Redwine JM, Comery TA, Arias R, Bowlby M, Martone R, Morrison JH, Pangalos MN, Reinhart PH, Bloom FE (2006) Early-onset behavioral and synaptic deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:5161-5166.
- Kesner RP (2005) Temporal processing of information: the role of the medial prefrontal cortex and hippocampus: theoretical comment on Gilmartin and McEchron (2005). *Behav Neurosci* 119:1705-1709.
- Killcross S, Coutureau E (2003) Coordination of actions and habits in the medial prefrontal cortex of rats. *Cereb Cortex* 13:400-408.
- Kim EK, Choi EJ (2010) Pathological roles of MAPK signaling pathways in human diseases. *Biochim Biophys Acta* 1802:396-405.

- King DL, Arendash GW, Crawford F, Sterk T, Menendez J, Mullan MJ (1999) Progressive and gender-dependent cognitive impairment in the APP(SW) transgenic mouse model for Alzheimer's disease. *Behav Brain Res* 103:145-162.
- Kunz L, Schroder TN, Lee H, Montag C, Lachmann B, Sariyska R, Reuter M, Stirnberg R, Stocker T, Messing-Floeter PC, Fell J, Doeller CF, Axmacher N (2015) Reduced grid-cell-like representations in adults at genetic risk for Alzheimer's disease. *Science* 350:430-433.
- Kuo YM, Emmerling MR, Vigo-Pelfrey C, Kasunic TC, Kirkpatrick JB, Murdoch GH, Ball MJ, Roher AE (1996) Water-soluble Abeta (N-40, N-42) oligomers in normal and Alzheimer disease brains. *J Biol Chem* 271:4077-4081.
- Kuperstein I, Broersen K, Benilova I, Rozenski J, Jonckheere W, Debulpaep M, Vandersteen A, Segers-Nolten I, Van Der Werf K, Subramaniam V, Braeken D, Callewaert G, Bartic C, D'Hooge R, Martins IC, Rousseau F, Schymkowitz J, De Strooper B (2010) Neurotoxicity of Alzheimer's disease Abeta peptides is induced by small changes in the Abeta42 to Abeta40 ratio. *EMBO J* 29:3408-3420.
- Lee JE, Han PL (2013) An update of animal models of Alzheimer disease with a reevaluation of plaque depositions. *Exp Neurobiol* 22:84-95.
- Li WZ, Li WP, Huang DK, Kan HW, Wang X, Wu WY, Yin YY, Yao YY (2012) Dexamethasone and Abeta(2)(5)-(3)(5) accelerate learning and memory impairments due to elevate amyloid precursor protein expression and neuronal apoptosis in 12-month male rats. *Behav Brain Res* 227:142-149.
- Lista S, Garaci FG, Ewers M, Teipel S, Zetterberg H, Blennow K, Hampel H (2014) CSF Abeta1-42 combined with neuroimaging biomarkers in the early detection, diagnosis and prediction of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 10:381-392.
- Lustbader JW et al. (2004) ABAD directly links Abeta to mitochondrial toxicity in Alzheimer's disease. *Science* 304:448-452.
- Ma QL, Harris-White ME, Ubuda OJ, Simmons M, Beech W, Lim GP, Teter B, Frautschy SA, Cole GM (2007) Evidence of Abeta- and transgene-dependent defects in ERK-CREB signaling in Alzheimer's models. *J Neurochem* 103:1594-1607.

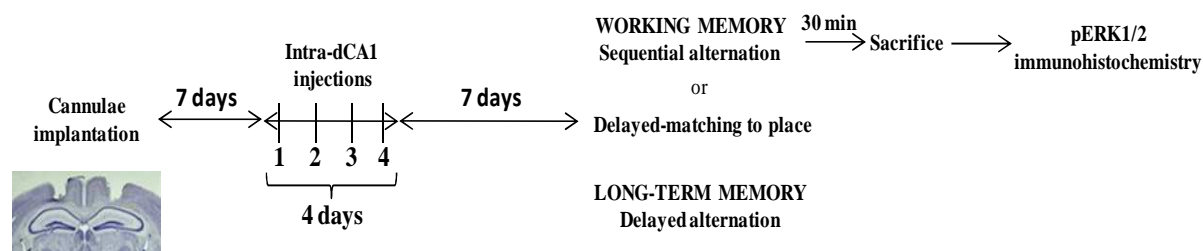
- Majlessi N, Choopani S, Kamalinejad M, Azizi Z (2012) Amelioration of amyloid beta-induced cognitive deficits by *Zataria multiflora* Boiss. essential oil in a rat model of Alzheimer's disease. *CNS Neurosci Ther* 18:295-301.
- Mamad O, McNamara HM, Reilly RB, Tsanov M (2015) Medial septum regulates the hippocampal spatial representation. *Front Behav Neurosci* 9:166.
- Mandelkow EM, Stamer K, Vogel R, Thies E, Mandelkow E (2003) Clogging of axons by tau, inhibition of axonal traffic and starvation of synapses. *Neurobiol Aging* 24:1079-1085.
- Martin SJ, Clark RE (2007) The rodent hippocampus and spatial memory: from synapses to systems. *Cell Mol Life Sci* 64:401-431.
- McGregor A, Hayward AJ, Pearce JM, Good MA (2004) Hippocampal lesions disrupt navigation based on the shape of the environment. *Behav Neurosci* 118:1011-1021.
- Morimoto K, Yoshimi K, Tonohiro T, Yamada N, Oda T, Kaneko I (1998) Co-injection of beta-amyloid with ibotenic acid induces synergistic loss of rat hippocampal neurons. *Neuroscience* 84:479-487.
- Morris RG, Baddeley AD (1988) Primary and working memory functioning in Alzheimer-type dementia. *J Clin Exp Neuropsychol* 10:279-296.
- Morris RG, Garrud P, Rawlins JN, O'Keefe J (1982) Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature* 297:681-683.
- Moser E, Moser MB, Andersen P (1993) Spatial learning impairment parallels the magnitude of dorsal hippocampal lesions, but is hardly present following ventral lesions. *J Neurosci* 13:3916-3925.
- Mucke L, Selkoe DJ (2012) Neurotoxicity of amyloid beta-protein: synaptic and network dysfunction. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2:a006338.
- Nagai T, Kamei H, Dohniwa M, Takayanagi M, Suzuki M, Matsuya T, Nabeshima T, Takuma K, Yamada K (2006) Involvement of hippocampal extracellular signal-regulated kinase 1/2 in spatial working memory in rats. *Neuroreport* 17:1453-1457.

- Nilsson LN, Arendash GW, Leighty RE, Costa DA, Low MA, Garcia MF, Cracciolo JR, Rojiani A, Wu X, Bales KR, Paul SM, Potter H (2004) Cognitive impairment in PDAPP mice depends on ApoE and ACT-catalyzed amyloid formation. *Neurobiol Aging* 25:1153-1167.
- Nisbet RM, Polanco JC, Ittner LM, Gotz J (2015) Tau aggregation and its interplay with amyloid-beta. *Acta Neuropathol* 129:207-220.
- Nordberg A (2008) Amyloid imaging in Alzheimer's disease. *Neuropsychologia* 46:1636-1641.
- Oakley H, Cole SL, Logan S, Maus E, Shao P, Craft J, Guillozet-Bongaarts A, Ohno M, Disterhoft J, Van Eldik L, Berry R, Vassar R (2006) Intraneuronal beta-amyloid aggregates, neurodegeneration, and neuron loss in transgenic mice with five familial Alzheimer's disease mutations: potential factors in amyloid plaque formation. *J Neurosci* 26:10129-10140.
- Ohno M, Sametsky EA, Younkin LH, Oakley H, Younkin SG, Citron M, Vassar R, Disterhoft JF (2004) BACE1 deficiency rescues memory deficits and cholinergic dysfunction in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neuron* 41:27-33.
- Parra MA, Abrahams S, Fabi K, Logie R, Luzzi S, Della Sala S (2009) Short-term memory binding deficits in Alzheimer's disease. *Brain* 132:1057-1066.
- Parra MA, Abrahams S, Logie RH, Mendez LG, Lopera F, Della Sala S (2010) Visual short-term memory binding deficits in familial Alzheimer's disease. *Brain* 133:2702-2713.
- Pearson-Leary J, McNay EC (2012) Intrahippocampal administration of amyloid-beta(1-42) oligomers acutely impairs spatial working memory, insulin signaling, and hippocampal metabolism. *J Alzheimers Dis* 30:413-422.
- Perry RJ, Hodges JR (2000) Fate of patients with questionable (very mild) Alzheimer's disease: longitudinal profiles of individual subjects' decline. *Dement Geriatr Cogn Disord* 11:342-349.
- Pertzov Y, Heider M, Liang Y, Husain M (2015) Effects of healthy ageing on precision and binding of object location in visual short term memory. *Psychol Aging* 30:26-35.

- Riedel G, Micheau J, Lam AG, Roloff EL, Martin SJ, Bridge H, de Hoz L, Poeschel B, McCulloch J, Morris RG (1999) Reversible neural inactivation reveals hippocampal participation in several memory processes. *Nat Neurosci* 2:898-905.
- Savage MJ, Lin YG, Ciallella JR, Flood DG, Scott RW (2002) Activation of c-Jun N-terminal kinase and p38 in an Alzheimer's disease model is associated with amyloid deposition. *J Neurosci* 22:3376-3385.
- Serino S, Cipresso P, Morganti F, Riva G (2014) The role of egocentric and allocentric abilities in Alzheimer's disease: a systematic review. *Ageing Res Rev* 16:32-44.
- Shankar GM, Li S, Mehta TH, Garcia-Munoz A, Shepardson NE, Smith I, Brett FM, Farrell MA, Rowan MJ, Lemere CA, Regan CM, Walsh DM, Sabatini BL, Selkoe DJ (2008) Amyloid-beta protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory. *Nat Med* 14:837-842.
- Shukla V, Zheng YL, Mishra SK, Amin ND, Steiner J, Grant P, Kesavapany S, Pant HC (2013) A truncated peptide from p35, a Cdk5 activator, prevents Alzheimer's disease phenotypes in model mice. *FASEB J* 27:174-186.
- Spellman T, Rigotti M, Ahmari SE, Fusi S, Gogos JA, Gordon JA (2015) Hippocampal-prefrontal input supports spatial encoding in working memory. *Nature* 522:309-314.
- Stanciu M, Wang Y, Kentor R, Burke N, Watkins S, Kress G, Reynolds I, Klann E, Angiolieri MR, Johnson JW, DeFranco DB (2000) Persistent activation of ERK contributes to glutamate-induced oxidative toxicity in a neuronal cell line and primary cortical neuron cultures. *J Biol Chem* 275:12200-12206.
- Steele RJ, Morris RG (1999) Delay-dependent impairment of a matching-to-place task with chronic and intrahippocampal infusion of the NMDA-antagonist D-AP5. *Hippocampus* 9:118-136.
- Stopford CL, Thompson JC, Neary D, Richardson AM, Snowden JS (2012) Working memory, attention, and executive function in Alzheimer's disease and frontotemporal dementia. *Cortex* 48:429-446.
- Sweatt JD (2004) Mitogen-activated protein kinases in synaptic plasticity and memory. *Curr Opin Neurobiol* 14:311-317.

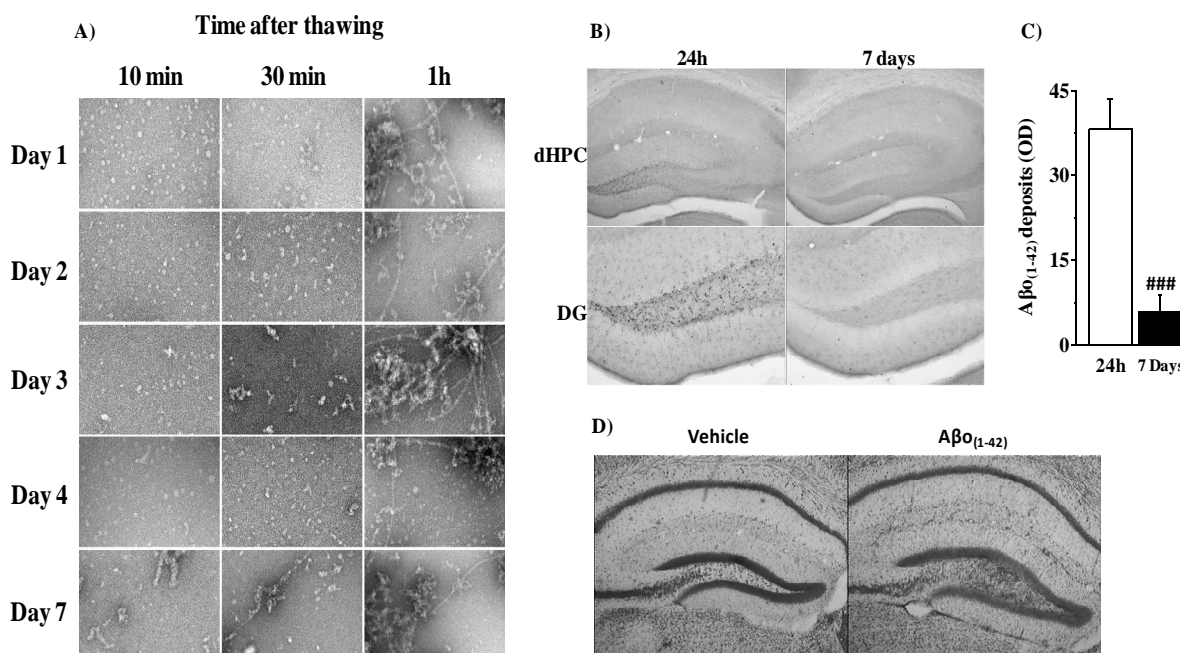
- Tarawneh R, Holtzman DM (2012) The clinical problem of symptomatic Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2:a006148.
- Terry RD, Masliah E, Salmon DP, Butters N, DeTeresa R, Hill R, Hansen LA, Katzman R (1991) Physical basis of cognitive alterations in Alzheimer's disease: synapse loss is the major correlate of cognitive impairment. *Ann Neurol* 30:572-580.
- Thal DR, Rub U, Orantes M, Braak H (2002) Phases of A beta-deposition in the human brain and its relevance for the development of AD. *Neurology* 58:1791-1800.
- Thierry AM, Gioanni Y, Degenetais E, Glowinski J (2000) Hippocampo-prefrontal cortex pathway: anatomical and electrophysiological characteristics. *Hippocampus* 10:411-419.
- Townsend M, Mehta T, Selkoe DJ (2007) Soluble Abeta inhibits specific signal transduction cascades common to the insulin receptor pathway. *J Biol Chem* 282:33305-33312.
- Trifilieff P, Calandreau L, Herry C, Mons N, Micheau J (2007) Biphasic ERK1/2 activation in both the hippocampus and amygdala may reveal a system consolidation of contextual fear memory. *Neurobiol Learn Mem* 88:424-434.
- Trifilieff P, Herry C, Vanhoutte P, Caboche J, Desmedt A, Riedel G, Mons N, Micheau J (2006) Foreground contextual fear memory consolidation requires two independent phases of hippocampal ERK/CREB activation. *Learn Mem* 13:349-358.
- Vandesquille M, Baudonnat M, Decorte L, Louis C, Lestage P, Beracochea D (2013) Working memory deficits and related disinhibition of the cAMP/PKA/CREB are alleviated by prefrontal alpha4beta2\*-nAChRs stimulation in aged mice. *Neurobiol Aging* 34:1599-1609.
- Vertes RP, Hoover WB, Viana Di Prisco G (2004) Theta rhythm of the hippocampus: subcortical control and functional significance. *Behav Cogn Neurosci Rev* 3:173-200.
- Villemagne VL, Pike KE, Darby D, Maruff P, Savage G, Ng S, Ackermann U, Cowie TF, Currie J, Chan SG, Jones G, Tochon-Danguy H, O'Keefe G, Masters CL, Rowe CC (2008) Abeta deposits in older non-demented individuals with cognitive decline are indicative of preclinical Alzheimer's disease. *Neuropsychologia* 46:1688-1697.

- Viola KL, Klein WL (2015) Amyloid beta oligomers in Alzheimer's disease pathogenesis, treatment, and diagnosis. *Acta Neuropathol* 129:183-206.
- Walsh DM, Klyubin I, Fadeeva JV, Rowan MJ, Selkoe DJ (2002) Amyloid-beta oligomers: their production, toxicity and therapeutic inhibition. *Biochem Soc Trans* 30:552-557.
- Watanabe T, Iwasaki K, Ishikane S, Naitou T, Yoshimitsu Y, Yamagata N, Ozdemir MB, Takasaki K, Egashira N, Mishima K, Fujiwara M (2008) Spatial memory impairment without apoptosis induced by the combination of beta-amyloid oligomers and cerebral ischemia is related to decreased acetylcholine release in rats. *J Pharmacol Sci* 106:84-91.
- Webster SJ, Bachstetter AD, Nelson PT, Schmitt FA, Van Eldik LJ (2014) Using mice to model Alzheimer's dementia: an overview of the clinical disease and the preclinical behavioral changes in 10 mouse models. *Front Genet* 5:88.
- Webster B, Hansen L, Adame A, Crews L, Torrance M, Thal L, Masliah E (2006) Astroglial activation of extracellular-regulated kinase in early stages of Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 65:142-151.
- Westerman MA, Cooper-Blacketer D, Mariash A, Kotilinek L, Kawarabayashi T, Younkin LH, Carlson GA, Younkin SG, Ashe KH (2002) The relationship between Abeta and memory in the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci* 22:1858-1867.
- Winkler J, Connor DJ, Frautschy SA, Behl C, Waite JJ, Cole GM, Thal LJ (1994) Lack of long-term effects after beta-amyloid protein injections in rat brain. *Neurobiol Aging* 15:601-607.
- Yao YY, Wu QS, Li WZ, Li WP (2011) Dexamethasone potentiated Abeta-induced learning and memory impairment in rats. *Neurol Res* 33:371-380.
- Zhu X, Lee HG, Raina AK, Perry G, Smith MA (2002) The role of mitogen-activated protein kinase pathways in Alzheimer's disease. *Neurosignals* 11:270-281.

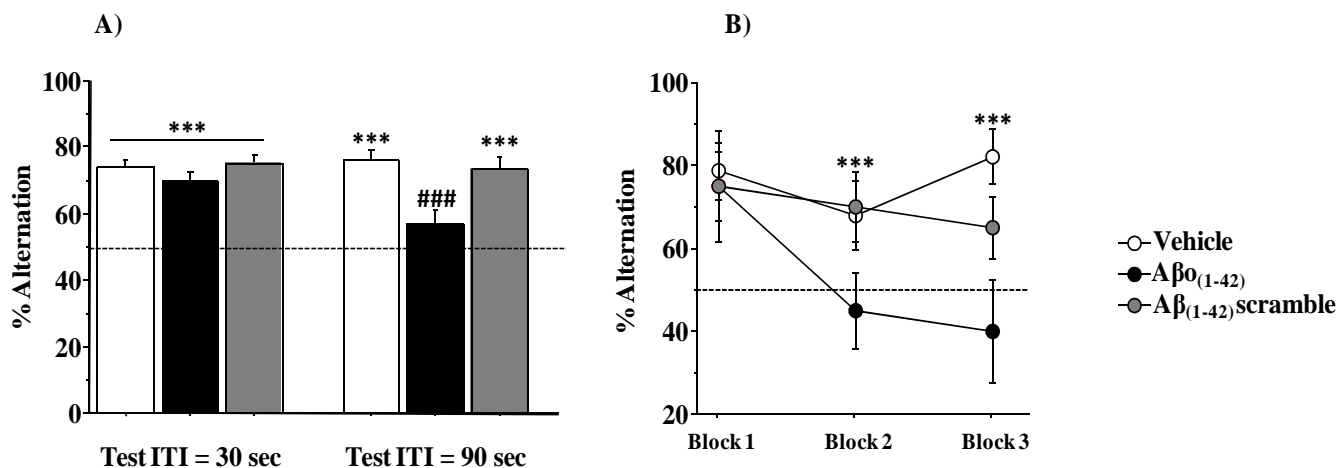


**Fig. 1: Experimental design of behavioral experiments.** Mice received bilateral, intra-dCA1 injections of  $A\beta_{(1-42)}$  or Vehicle solution during 4 consecutive days (one injection per day). Seven days after the last injection, separate cohorts of mice belonging to the  $A\beta_{(1-42)}$  and Vehicle-infused groups were tested for working or spatial memory function using 3 different behavioral tasks. Working memory was tested using the sequential alternation task in a T-maze ( $A\beta_{(1-42)}$ :  $n = 10$ ,  $A\beta_{(1-42)}$  scramble:  $n = 10$  and Vehicle:  $n = 18$ ) and the delayed matching to place paradigm in the Morris water maze ( $A\beta_{(1-42)}$ :  $n = 8$  and Vehicle:  $n = 9$ ); Spatial memory was evaluated using the delayed alternation task in the T-maze ( $A\beta_{(1-42)}$ :  $n = 13$  and Vehicle:  $n = 7$ ). Cohorts of mice tested in the sequential alternation task were killed 30 minutes after the beginning of the test session for pERK1/2 immunohistochemistry.

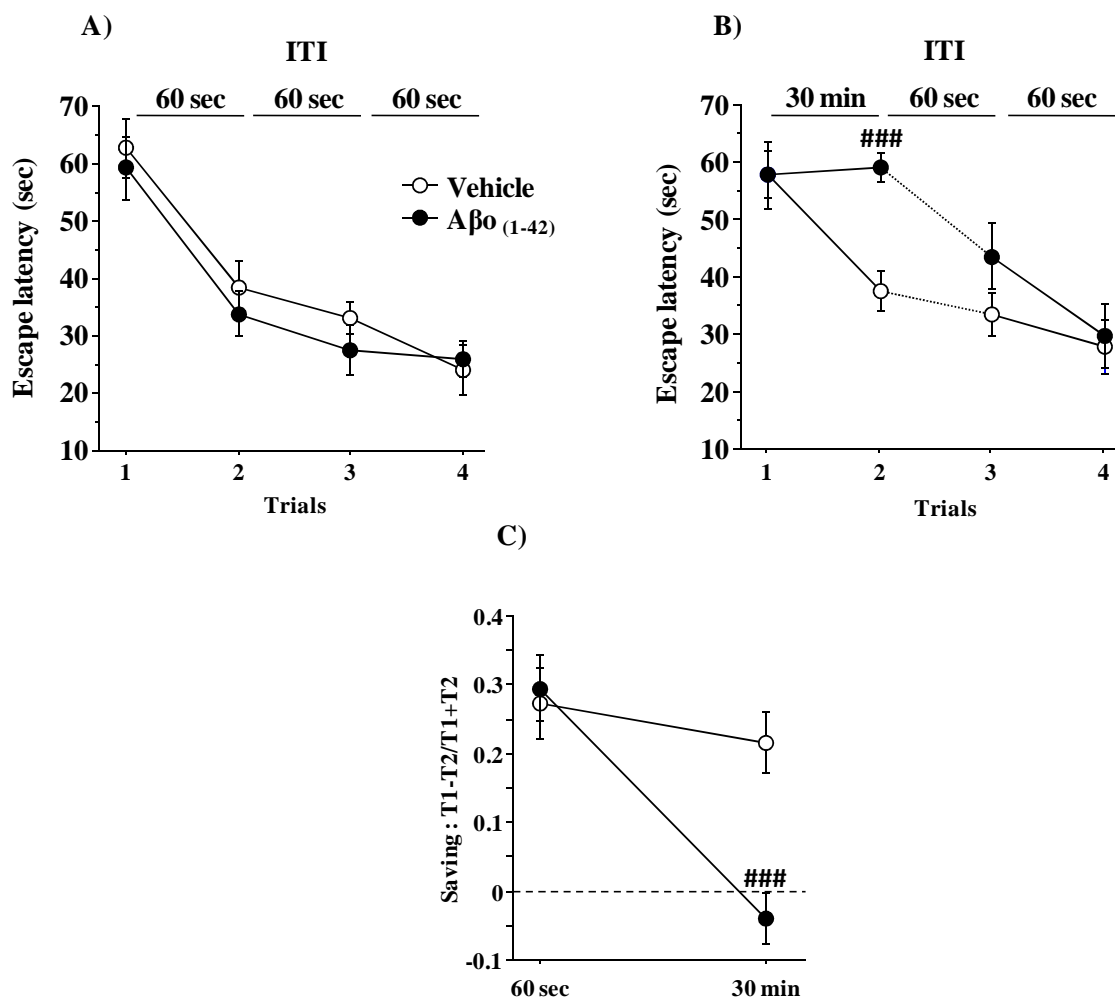




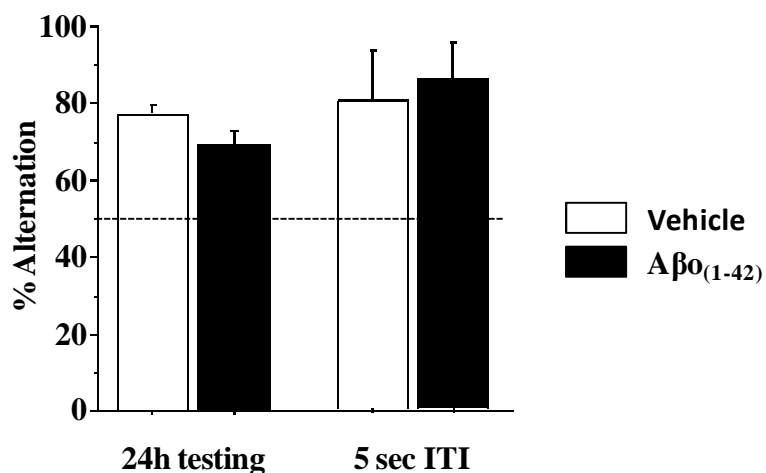
**Fig. 2: Histological characteristics of the *in vivo* model based on 4 consecutive injections of Aβ<sub>(1-42)</sub>.** A) TEM analysis of Aβ<sub>(1-42)</sub> purified solution injected *in vivo* into the dCA1. The analysis was performed every day during 7 consecutive days at 10, 30 and 1h after thawing. The results showed that from day 1 to day 4, the solution was mainly composed of oligomeric Aβ<sub>(1-42)</sub> species when thawing did not exceed 30 minutes. B) Semi-quantitative analysis of Aβ<sub>(1-42)</sub> deposits (expressed as mean optical density (OD) in the dHPC) region of mice sacrificed 24 hours or 7 days after the last injection (n = 5 for each group). C) Low magnification photomicrographs of Aβ<sub>(1-42)</sub> deposits within the entire dHPC (top) and higher magnification photomicrographs of the dentate gyrus (DG; bottom) from Aβ<sub>(1-42)</sub>-injected mice sacrificed 24h or 7 days after the last injection. D) Representative dHPC sections seven days after the last intradCA1 injections of Aβ<sub>(1-42)</sub> or vehicle solution stained by thionine. Aβ<sub>(1-42)</sub> intra-dCA1 injections induce neuronal death specifically in the dentate gyrus.



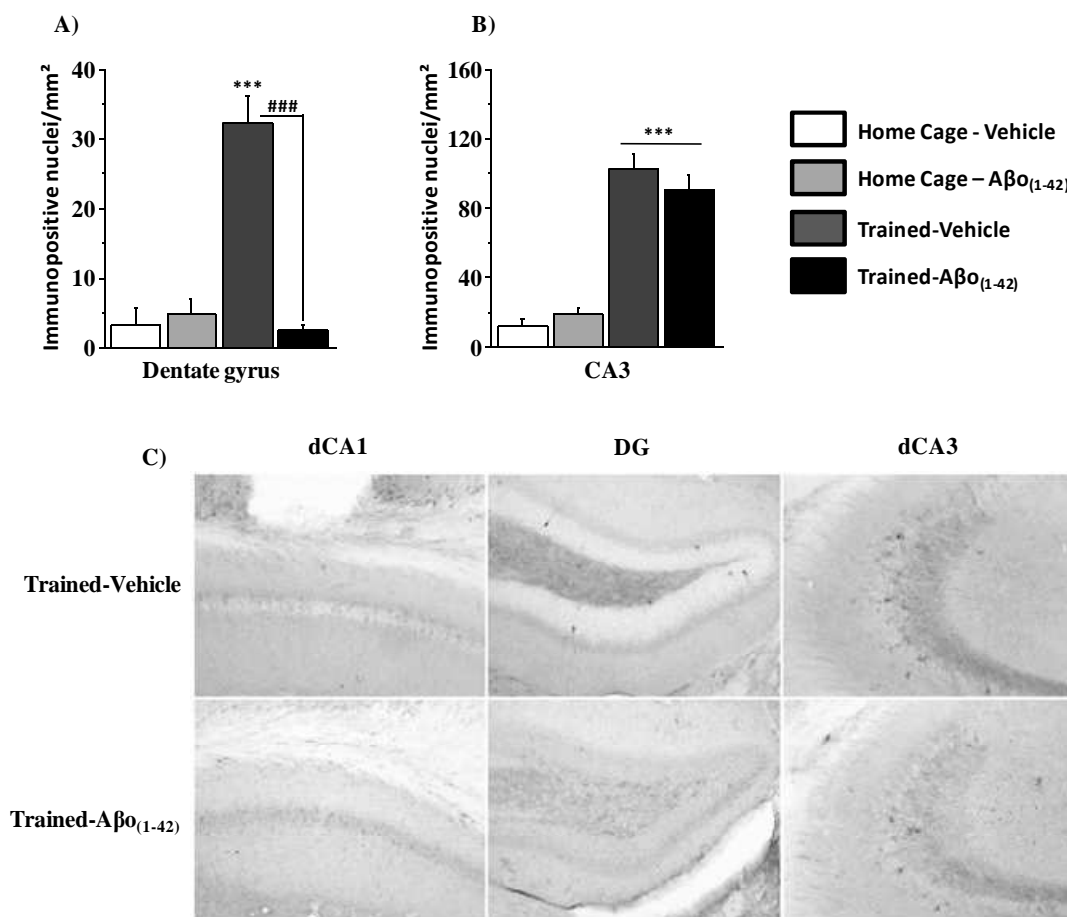
**Fig. 3: Intra-CA1 A $\beta_{(1-42)}$  treatment decreases working memory performance in a sequential alternation task in T-maze.** Percentage alternation performances were measured during pre-test (ITI = 30 sec) and test (ITI = 90 sec) sessions on Vehicle (n = 18), A $\beta_{(1-42)}$  (n = 10) and A $\beta_{(1-42)}$  scramble (n = 10) groups. A) Alternation performances were impaired in the A $\beta_{(1-42)}$  group during the test session compared with Vehicle and A $\beta$  scramble groups. B) Two trials blocks analysis indicated that alternation performance of A $\beta_{(1-42)}$  group was impaired during successive trials. *Versus 50% chance level \*\*\*  $p < 0.001$ ; Between-group comparisons; ###  $p < 0.001$ .*



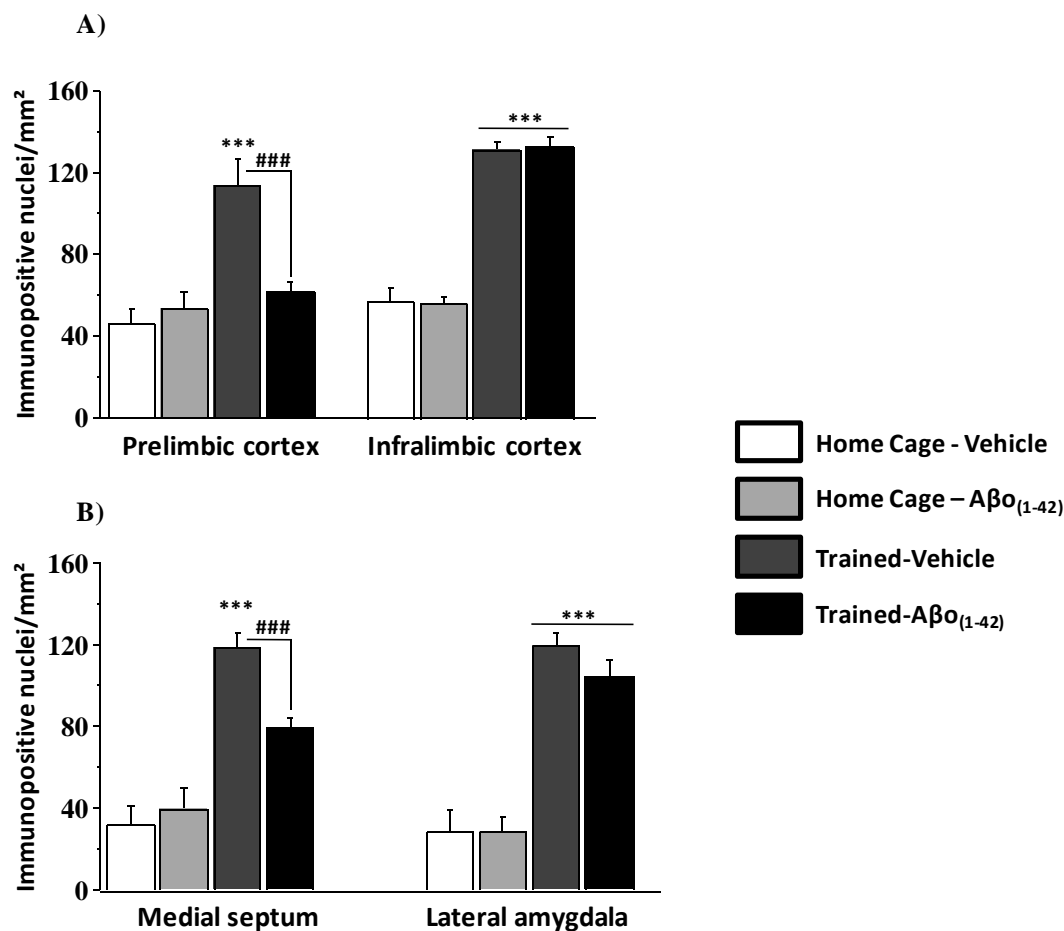
**Fig. 4: Intra-dCA1 A $\beta_{(1-42)}$  treatment decreases working memory performance in a delayed matching to place paradigm in the water maze.** Escape latencies (sec) as well as percentage saving were measured in A $\beta_{(1-42)}$  (n = 8) and vehicle (n = 9) groups. A) A $\beta_{(1-42)}$  and Vehicle groups showed similar escape latency values during the 4 trials when the ITI was fixed at 60 sec. B) A $\beta_{(1-42)}$  group exhibited a reduced escape latency value between trial 1 and trial 2 when ITI was set at 30 min, which was restored to that of vehicle group when ITI was reduced to 60 sec. C) A $\beta_{(1-42)}$  group exhibited a decrease in percentage of saving when ITI was 30 min compared to vehicle group whereas no saving difference was observed when ITI was 60 sec. Saving was expressed as (Latency trial 1 – Latency Trial 2) / (Latency trial 1 + Latency Trial 2). *Between-group comparisons; ###  $p < 0.001$ .*



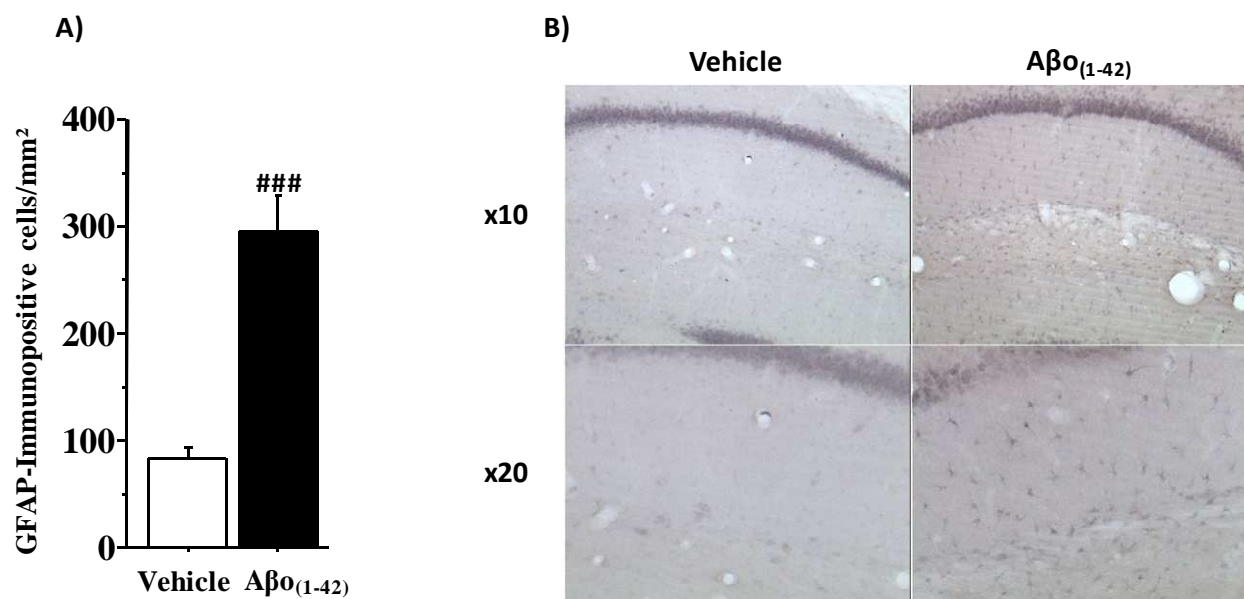
**Fig. 5: Effects of intra-dCA1 Aβ<sub>(1-42)</sub> injections on spatial delayed memory in the water maze.** Percentage of alternation was measured in Aβ<sub>(1-42)</sub> (n = 13) and Vehicle (n = 7) groups at 24h and 5sec ITI. There was significant between-group difference when animals were tested 24h after the acquisition whereas intra-dCA1 Aβ<sub>(1-42)</sub> injections did not affect spatial delayed memory at 5 sec ITI.



**Fig. 6: Effects of intra-dCA1 Aβ<sub>(1-42)</sub> injections on levels of phosphorylated ERK1/2 (pERK) in the dorsal hippocampus.** Tested animals were killed 30 min after the beginning of the sequential alternation test session. Levels of pERK were measured in the dorsal DG and the dorsal CA3 from Vehicle-injected mice (home-cage: n = 5; Tested: n = 10) and Aβ<sub>(1-42)</sub>-injected mice (home-cage: n = 5; Tested: n = 9). A) Tested-related increase of pERK in the DG was abolished by Aβ<sub>(1-42)</sub> injections. B) In the dorsal CA3, Aβ<sub>(1-42)</sub> had no effect on pERK levels in comparison with Vehicle, regardless of home-cage or tested conditions. C) Representative photomicrographs of pERK immunoreactivity within the dCA1, DG and dCA3 of Trained-Vehicle (top) and Trained-Aβ<sub>(1-42)</sub> (bottom) groups. <sup>\*\*\*</sup>: *Test effect*; <sup>###</sup>: *Between-group comparisons*.



**Fig. 7: Effects of intra-dCA1 A $\beta$ <sub>o(1-42)</sub> injections on levels of pERK in other structures related to the hippocampus.** The same animals as depicted in Fig. 6 were used for these analyses. A) In the mPFC, levels of pERK were measured in the prelimbic (PL) and infralimbic (IL) cortices. Intra-dCA1 A $\beta$ <sub>o(1-42)</sub> injections abolished tested-related increase in pERK only in the PL. B) In the septum, pERK1/2 levels were inhibited by dCA1 infusions of A $\beta$ <sub>o(1-42)</sub>. In the lateral amygdala (LA), A $\beta$ <sub>o(1-42)</sub> had no effect on pERK, regardless of home-cage or tested conditions. \*\*\*: *Test effect*; ###: *Between-group comparisons*



**Supplemental data:** Effect of intra-hippocampal injections of Aβ<sub>0</sub>(1-42) on GFAP expression in the dorsal hippocampus. A) Comparison between Aβ<sub>0</sub>(1-42)-injected mice (n = 8) and Vehicle-injected mice (n = 8). Aβ<sub>0</sub>(1-42) injections into the dCA1 induce an increase of GFAP expression specifically in the dHPC. B) Low magnification photomicrographs of GFAP immunopositive cells in the dHPC of Vehicle-injected and Aβ<sub>0</sub>(1-42)-injected mice showing an increase of GFAP immunoreactivity in mice receiving intra-dCA1 injections of Aβ<sub>0</sub>(1-42). #: Between-group comparisons ###  $p < 0.001$ .

# **CHAPITRE II**





## Chapitre 2 : Implication des récepteurs $\alpha 7$ -nAChRs dans les effets délétères sous-tendus par les peptides $A\beta_{(1-42)}$

### I. Introduction

La MA est caractérisée par une perte sévère des neurones cholinergiques dans les régions corticales et le lobe temporal médian. Ces neurones cholinergiques jouent un rôle primordial dans les processus attentionnels et mnésiques et notamment dans la mémoire de travail et la mémoire épisodique (Hasselmo et al., 1996 ; Chrobak et al., 1988 ; Olson et al., 1992). Le septum médian et le noyau basal magnocellulaire sont les sources majeures des neurones cholinergiques projetant respectivement vers l'HPC et le CPF (Woolf et al., 2011), régions très denses en récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs. La stimulation de ces récepteurs induit un influx de  $Ca^{2+}$  et l'activation de différentes voies de signalisation telles que la voie MAPK/ERK (Dajas-Bailador et al., 2002 ; Gubbins et al., 2010), qui régulent la plasticité synaptique et les processus mnésiques (Ji et al., 2001 ; Dani, 2001 ; Levin., 2002 ; Berg et Conroy, 2002 ; Quick et Lester., 2002 ; Dajas-Bailador et Wonnacott, 2004 ; Fayuk et Yakel, 2007).

Les interactions entre les peptides  $A\beta_{(1-42)}$  et les récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs ont été largement décrites. En effet, le fait que les  $A\beta_{(1-42)}$  se fixent sur les récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs avec une très forte affinité (pM) (Wang et al., 2000 a,b) a conduit à l'hypothèse que ces récepteurs pourraient jouer un rôle important dans l'évolution de la MA. Cette hypothèse a été confortée par les travaux de Wang montrant (i) une co-localisation des  $A\beta_{(1-42)}$  et des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs au niveau de plaques neuritiques de cerveaux de patients atteints de MA, (ii) la mort de neurones surexprimant les récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs après une application d' $A\beta_{(1-42)}$  ainsi (iii) qu'une inhibition des courant calciques dépendants des  $\alpha 7$ -nAChRs par les  $A\beta_{(1-42)}$ . De plus, d'autres études ont démontré que l'internalisation intraneuronale des  $A\beta_{(1-42)}$  était facilitée par leur fixation aux récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs (Nagele et al., 2002) et que la transmission synaptique était perturbée consécutivement à l'endocytose des récepteurs NMDA causée par les  $A\beta_{(1-42)}$  après une stimulation des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs (Snyder et al., 2005).

Enfin, les neurones cholinergiques du complexe basal antérieur de patients atteints de MA présentent une augmentation significative de l'expression des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs qui est inversement proportionnelle aux performances cognitives et neuropsychologiques des patients (Counts et al., 2007). Cette augmentation des récepteurs  $\alpha 7$ -

nAChRs a également été rapportée dans les régions corticale et hippocampique de patients souffrant de MA, ce qui a conduit à l'hypothèse que cette augmentation pourrait être une réponse directe à celle de la charge amyloïde. En effet, de faibles doses (pM) d'A $\beta_{(1-42)}$  appliquées sur des cultures de neurones hippocampiques induisent l'activation de cascades intracellulaires impliquées dans la survie neuronale et contribuent à la plasticité synaptique (Bell et al., 2004 ; Dougherty et al., 2003), alors que de fortes doses (nM,  $\mu$ M) d'A $\beta_{(1-42)}$  durant un temps prolongé induisent une perturbation de ces mêmes voies de signalisation et augmentent l'expression des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs (Dineley et al., 2002).

Ces observations nous ont conduit à élaborer l'hypothèse selon laquelle l'augmentation de la concentration en A $\beta_{(1-42)}$  (retrouvée au cours de l'évolution de la pathologie) provoquerait une inhibition fonctionnelle des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs. Plus précisément, de fortes doses d'A $\beta_{(1-42)}$  ( $\mu$ M) auraient une action antagoniste vis-à-vis des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs. Ainsi, l'augmentation de l'expression des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs chez les patients atteints de MA pourrait refléter une augmentation de l'interaction A $\beta_{(1-42)}$ / $\alpha 7$ -nAChRs contribuant au processus d'évolution de la maladie.

Si tel est le cas, alors : i) l'effet délétère des injections intra-hippocampiques d'A $\beta_{(1-42)}$  devrait être atténué voire supprimé chez des souris KO $\alpha 7$ -nAChRs (Expérience 2) et ii) l'occupation des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs par des composés pharmacologiques agonistes ou antagonistes devrait bloquer l'effet perturbateur des A $\beta_{(1-42)}$  sur la mémoire de travail (Expériences 3, 4 et 5). Outre les effets cognitifs, nous avons également évalué au cours de l'expérience 3 les conséquences des injections de l'agoniste partiel (S24795) des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs sur la voie de signalisation MAPK/ERK initialement perturbée par les injections intra-hippocampiques d'A $\beta_{(1-42)}$  (*Cf : Chapitre I*).

## II. Méthodologie

Les expériences ont été menées, comme dans l'étude précédente (*Cf : Chapitre I*), sur des souris mâles C57Bl6/J âgées de 10 mois ayant reçu un traitement intra-hippocampique d'A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> ou de Solvant durant 4 jours consécutifs. Chacune des procédures comportementale, immunohistochimique et pharmacologique est détaillée dans la partie « Matériels et Méthodes » de ce manuscrit.

### 1. Effets des injections intra-hippocampiques sur l'intégrité du système cholinergique

#### **Expérience 1 Impact des injections intra-hippocampiques d'A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> sur la concentration de la ChAT dans différentes structures cérébrales.**

Afin d'évaluer l'atteinte du système cholinergique par les A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>, nous avons entrepris de mesurer la concentration de la choline acétyltransférase (ChAT), enzyme responsable de la synthèse de l'ACh à partir de la choline (*Cf : Introduction générale, Partie III. I.1*) dans différentes structures cérébrales impliquées dans les processus mnésiques (HPCd, CPF, Striatum, Septum). Les animaux ont reçu des injections intra-dCA1 d'A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> (N = 5) ou de Solvant (N = 5) durant 4 jours consécutifs (une injection par jour) et ont ensuite été sacrifiés 7 jours après la dernière injection; la concentration de la ChAT a ensuite été évaluée par méthode ELISA (*Cf : Matériels et Méthodes*).

### 2. Implication des récepteurs $\alpha 7$ -nAChRs dans les déficits mnésiques et moléculaires induits par les A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>

#### **Expérience 2 Etude des effets d'injections intra-hippocampiques d'A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> sur la mémoire de travail chez des souris KO $\alpha 7$ -nAChRs**

En raison de l'implication des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs dans les pathologies synaptiques et cognitives produits par les peptides A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> dans la MA, nous avons étudié l'impact d'injections intra-dCA1 d'A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> sur la mémoire de travail chez des souris C57Bl6/J âgées de 10 mois présentant une délétion constitutive du gène codant pour la sous-unité  $\alpha 7$  des

récepteurs nicotiniques (KO $\alpha$ 7; Charles RIVERS) ainsi que chez leurs homologues sauvages (wild-type ; WT) issus de la même fratrie.

Pour cela, 4 groupes d'animaux ont été constitués (Tableau 3) : deux groupes de souris WT et deux groupes de souris KO $\alpha$ 7 recevant soit des injections intra-dCA1 d'A $\beta$ <sub>0(1-42)</sub> ou de Solvant. Les performances en mémoire de travail ont été évaluées dans la tâche d'alternance spontanée en labyrinthe en T (*Cf : Matériels et Méthodes*) 7 jours après la dernière injection.

		Génotype	
		WT	KO $\alpha$ 7
Injections intra-hippocampiques	Solvant	N = 6	N = 6
	A $\beta$ <sub>0(1-42)</sub>	N = 6	N = 7

**Tableau 3 : Répartition des différents groupes d'animaux en fonction de leur génotype et des traitements intra-hippocampiques.**

Les analyses statistiques des données comportementales ont été effectuées par une ANOVA à deux facteurs (facteur génotype et facteur A $\beta$ <sub>0(1-42)</sub>), suivie d'un test post-hoc adapté afin de comparer les différents groupes entre eux.

Pour les expériences pharmacologiques suivantes (expériences 3 à 5), le plan expérimental est représenté par la Fig. 29.

### **Expérience 3 Effets mnésiques et moléculaires d'un traitement chronique et systémique par un agoniste partiel des récepteurs $\alpha$ 7-nAChRs (S24795)**

Dans le but de cibler plus précisément les récepteurs  $\alpha$ 7-nAChRs et de mieux caractériser les conséquences fonctionnelles sur le plan mnésique et moléculaire de l'interaction A $\beta$ <sub>0(1-42)</sub>/ $\alpha$ 7-nAChRs, nous avons modulé l'activité des récepteurs  $\alpha$ 7-nAChRs *via* une approche pharmacologique, en utilisant un traitement systémique par un agoniste partiel spécifique de ces récepteurs, issu de la recherche SERVIER : le S 24795 (*Cf :*

*Matériels et Méthodes V.2*). Le traitement S 24795 a été réalisé avec deux doses différentes de 1 et 3 mg/Kg, et administré de manière chronique durant 10 jours consécutifs par voie intrapéritonéale (i.p).

Pour réaliser cette expérience, 6 groupes d'animaux récapitulés dans le tableau 4, ont été constitués. La mémoire de travail a été évaluée pour chacun des groupes dans la tâche d'alternance spontanée en labyrinthe en « T » 7 jours après la dernière injection intra-dCA1.

		Traitements pharmacologiques i.p		
		NaCL 0.9%	S 24795 (1mg/Kg)	S 24795 (3mg/Kg)
Injections intra-hippocampiques	Solvant	N = 9	N = 8	N = 10
	A $\beta$ <sub>0(1-42)</sub>	N = 9	N = 9	N = 8

**Tableau 4 : Représentation des différents groupes d'animaux constitués et de l'effectif composant chaque groupe.**

Afin d'évaluer les conséquences sur la voie MAPK/ERK du traitement par le S 24795, les animaux ont été sacrifiés par perfusion intra-cardiaque 30 minutes après le début du test et des analyses immunohistochimiques avec un anticorps ciblant la forme phosphorylée de ERK1/2 (pERK1/2) ont été réalisées (*Cf : Matériels et Méthodes VII, et Chapitre I*). En plus des groupes cités précédemment, quatre groupes (N = 5) dénommés « Naïf » ont été constitués par des souris n'ayant pas effectué la tâche de mémoire de travail (Naïf-Solvant-NaCl ; Naïf-Solvant-S 24795 ; Naïf-A $\beta$ <sub>0(1-42)</sub>-NaCl et Naïf-A $\beta$ <sub>0(1-42)</sub>-S 24795), afin d'évaluer le niveau basal de pERK1/2 dans chacune des structures étudiées (CA1, GD, CA3, PL, IL, SM et SL).

Les analyses statistiques des données comportementales et immunohistochimiques ont été effectuées par une ANOVA à plusieurs facteurs (A $\beta$ <sub>0(1-42)</sub> ; S 24795 ; test), suivie d'un test *post-hoc* adapté afin de comparer les différents groupes entre eux. De plus, en ce qui concerne les données comportementales, un test *t* non apparié de Student a été effectué afin de comparer les groupes par rapport au hasard fixé à 50%.

**Expériences 4 et 5: Effets de traitements chroniques et systémiques par un agoniste complet (PNU 282987) et un antagoniste complet (Méthyllycaconitine) des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs**

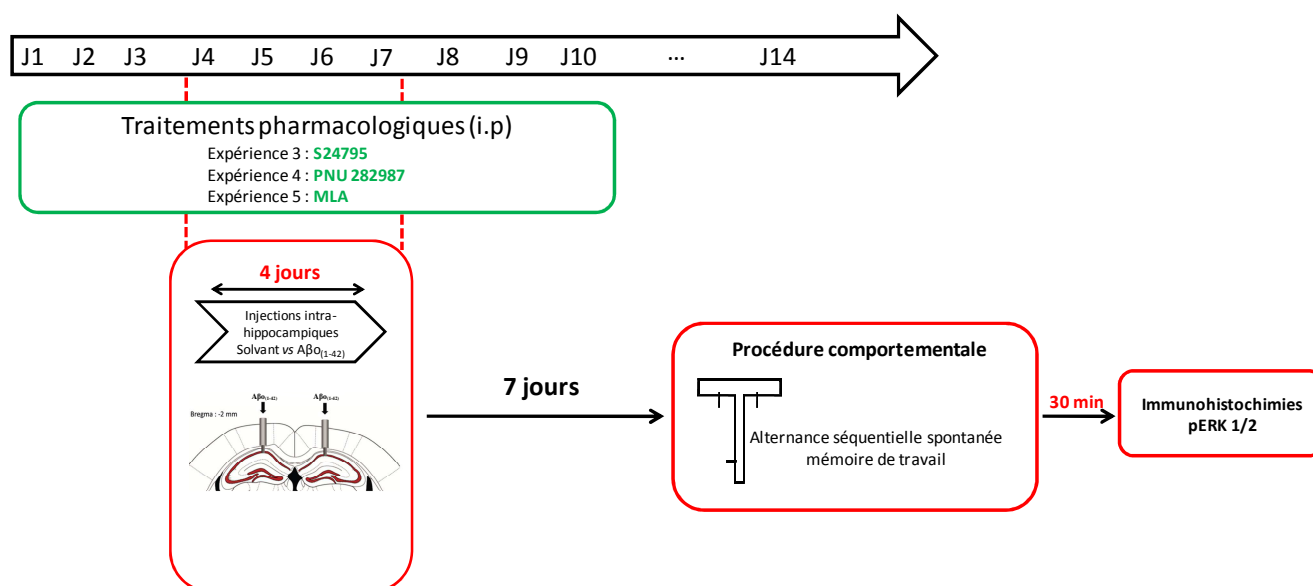
Afin de confirmer et de compléter les résultats obtenus avec l'agoniste partiel S 24795, nous avons réalisé deux nouvelles expériences pharmacologiques basées sur le même schéma expérimental que l'expérience 3. Cependant, dans ces études, nous avons évalué l'impact d'un traitement chronique (10 jours consécutifs) et systémique à la dose de 3mg/Kg de PNU 282987 (agoniste complet des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs ; expérience 4), et de MLA (antagoniste complet des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs ; expérience 5), chez des animaux ayant reçu des injections intra-dCA1 d'A $\beta$ <sub>o(1-42)</sub> ou de solvant (Tableau 5)

		Traitements pharmacologiques i.p			
		NaCl	PNU (3mg/Kg)	NaCl	MLA (3mg/Kg)
<b>Injections intra-hippocampiques</b>	<b>Solvant</b>	N = 5	N = 5	N = 6	N = 5
	<b>A<math>\beta</math><sub>o(1-42)</sub></b>	N = 5	N = 7	N = 6	N = 6

**Tableau 5 : Répartition des différents groupes d'animaux des expériences 4 et 5.**

Les performances des animaux ont été évaluées comme précédemment dans la tâche d'alternance séquentielle spontanée en labyrinthe en « T », 7 jours après la dernière injection intra-dCA1.

Les analyses statistiques des données comportementales ont été effectuées par une ANOVA à deux facteurs (A $\beta$ <sub>o(1-42)</sub> ; PNU282987 ou MLA) suivie d'un test *post hoc* adéquat afin de comparer les groupes entre eux. De plus, un test *t* non apparié de Student a été effectué afin de comparer les groupes par rapport au hasard fixé à 50%.



**Fig. 29 : Plan expérimental des expériences pharmacologiques ciblant les récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs.** Comme dans le chapitre 1, les animaux ont reçu 4 injections d' $A\beta_{(1-42)}$  ou de Solvant dans le dCA1 et les performances mnésique ont été évaluées 7 jours après la dernière injection dans une tâche d'alternance spontanée. En parallèle des injections intra-cérébrales, les animaux ont reçu des traitements pharmacologiques chroniques et systémiques ciblant les récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs durant 10 jours consécutifs avant, pendant et après les injections intra-dCA1 afin d'évaluer le potentiel préventif et protecteur de tels traitements sur les effets délétères engendrés par les  $A\beta_{(1-42)}$  hippocampiques. Les performances ont été évaluées 4 jours après le dernier traitement afin de s'affranchir des effets aigus des traitements pharmacologiques.

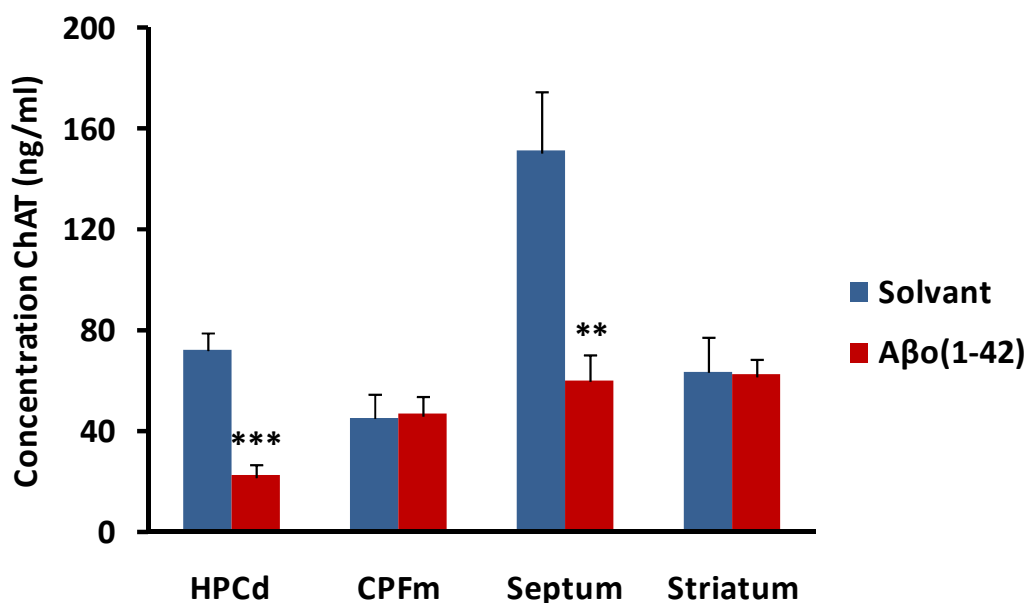


### III. Résultats

#### 1. Effets des injections intra-dCA1 d'A $\beta$ <sub>o(1-42)</sub> sur la concentration de la ChAT dans différentes structures cérébrales (Expérience 1)

Nous avons évalué les concentrations de ChAT dans l'HPCd, le CPF, le septum ainsi que dans le striatum, consécutivement aux injections intra-dCA1 d'A $\beta$ <sub>o(1-42)</sub>.

Les résultats présentés dans la fig. 30 montrent une diminution significative de la concentration de la ChAT dans l'HPCd ainsi que dans le septum chez les animaux ayant reçu des injections intra-dCA1 d'A $\beta$ <sub>o(1-42)</sub> par rapport au groupe « Solvant » [HPCd : ( $F_{(1,8)} = 38.569$  ;  $p < 0.001$ ) ; Septum : ( $F_{(1,8)} = 11.744$  ;  $p = 0.009$ )] 7 jours après la dernière injection d'A $\beta$ <sub>o(1-42)</sub>. En revanche, la concentration de la ChAT n'est pas perturbée chez les animaux du groupe A $\beta$ <sub>o(1-42)</sub> dans le CPF ainsi que dans le striatum [CPF : ( $F_{(1,8)} = 0.014$  ;  $p = 0.9$ ) ; Striatum : ( $F_{(1,8)} = 0.006$  ;  $p = 0.93$ )]



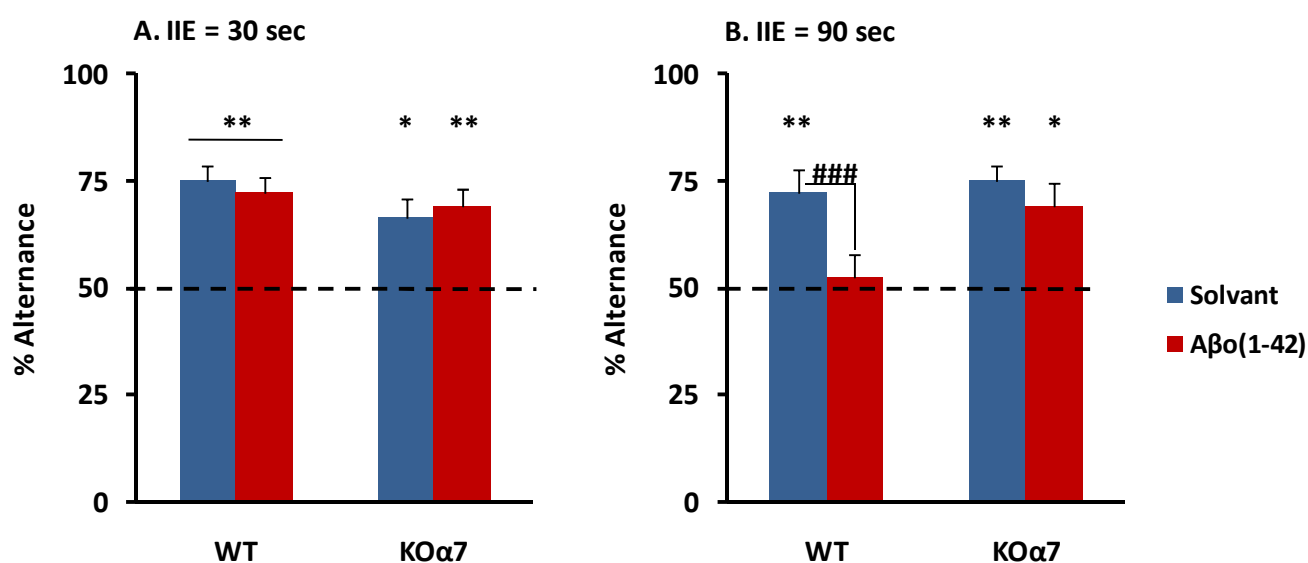
**Fig. 30 :** Concentration de la ChAT (ng/ml) dans l'HPCd, le CPF, le septum et le striatum chez des animaux ayant reçu des injections intra-dCA1 de solvant ou d'A $\beta$ <sub>o(1-42)</sub>. \*\* :  $p < 0.01$  ; \*\*\*  $p < 0.001$ .

Ces résultats montrent que les injections intra-dCA1 d'A $\beta$ <sub>o(1-42)</sub> induisent une diminution à long terme de la concentration de la ChAT au niveau hippocampique et septal, tout en préservant le CPF et le striatum. Ceci suggère que notre modèle, basé sur 4 injections d'A $\beta$ <sub>o(1-42)</sub> dans le dCA1, induit une perturbation du système cholinergique spécifiquement au niveau de la voie hippocampo-septale.

## 2. Implication des récepteurs $\alpha 7$ -nAChRs dans les déficits mnésiques et moléculaires induits par les $A\beta_{(1-42)}$

### Expérience 2 : Effets d'injections intra-dCA1 d' $A\beta_{(1-42)}$ sur la mémoire de travail chez des souris $KO\alpha 7$

Les résultats présentés dans la fig. 31 montrent que les souris  $KO\alpha 7$  ne présentent pas d'altération de la mémoire de travail dans une épreuve d'alternance spontanée consécutivement aux injections intra-dCA1 d' $A\beta_{(1-42)}$  contrairement à leurs homologues WT.



**Fig. 31 : Alternance spontanée chez des souris WT et  $KO\alpha 7$  ayant reçu un traitement intra-dCA1 de solvant ou d' $A\beta_{(1-42)}$ . A. Pas de déficit observé pour un IIE de 30 sec. B. Déficit d'alternance chez les animaux du groupe WT- $A\beta_{(1-42)}$ , qui n'est pas observé chez les animaux  $KO\alpha 7$ , lorsque ceux-ci sont testés avec un IIE de 90 sec. comparaison avec le hasard : \* :  $p < 0.05$  ; \*\* :  $p < 0.01$  ; # : comparaison inter-groupe : ### :  $p < 0.001$ .**

Plus précisément, la fig. 31A indique que tous les animaux présentent des performances similaires durant la session pré-test, lorsque l'intervalle inter-essais (IIE) est de 30 sec. L'ANOVA à deux facteurs confirme l'absence d'effet lié au génotype ( $F_{(1,21)} = 2.029$  ;  $p = 0.16$ ), l'absence d'effet «  $A\beta_{(1-42)}$  » ( $F_{(1,21)} = 0.002$  ;  $p = 0.96$ ) ainsi qu'une absence d'interaction significative « génotype x  $A\beta_{(1-42)}$  » ( $F_{(1,21)} = 0.406$  ;  $p = 0.53$ ). De manière plus spécifique, les analyses statistiques montrent que tous les groupes présentent des performances significativement supérieures au hasard (50%) [WT-Solvant :  $(75 \pm 3.712 \%$  ;  $t(5) = 6.735$  ;  $p = 0.001$ ) ; WT- $A\beta_{(1-42)}$  :  $(72.233 \pm 3.5\%$  ;  $t(5) = 6.353$  ;  $p = 0.001$ ) ;  $KO\alpha 7$ -

Solvant : ( $66.683 \pm 4.299\%$  ;  $t(5) = 3.881$  ;  $p = 0.01$ ) ; KO $\alpha 7$ -A $\beta_{O(1-42)}$  : ( $69.057 \pm 4.34$  ;  $t(6) = 4.391$  ;  $p = 0.004$ ].

En revanche, lors de la session test (Fig. 31B), lorsque l'IIE est de 90 sec, les groupes WT-Solvant, KO $\alpha 7$ -Solvant et KO $\alpha 7$ -A $\beta_{O(1-42)}$  présentent des performances significativement supérieures au hasard [WT-Solvant : ( $72.212 \pm 5.551\%$  ;  $t(5) = 4.002$  ;  $p = 0.01$ ) ; KO $\alpha 7$  - Solvant : ( $75 \pm 3.725\%$  ;  $t(5) = 6.711$  ;  $p = 0.001$ ) ; KO $\alpha 7$ -A $\beta_{O(1-42)}$  : ( $69.047 \pm 5.667\%$  ;  $t(6) = 3.361$  ;  $p = 0.015$ )] alors que les animaux du groupe WT-A $\beta_{O(1-42)}$  répondent au hasard ( $52.778 \pm 5.123\%$  ;  $t(5) = 0.542$  ;  $p = 0.61$ ). L'ANOVA à deux facteurs indique qu'il n'y a pas d'effet du génotype ( $F_{(1,21)} = 3.412$  ;  $p = 0.08$ ) mais qu'il existe un effet « A $\beta_{O(1-42)}$  » significatif ( $F_{(1,21)} = 6.055$  ;  $p = 0.02$ ) qui est confirmé par les analyses *post hoc* (Fisher PLSD), montrant que les performances des animaux du groupe WT-A $\beta_{O(1-42)}$  ( $52.778 \pm 5.123\%$ ) sont significativement inférieures à celles des groupes WT-Solvant ( $72.212 \pm 5.551\%$ ), KO $\alpha 7$ -Solvant ( $75 \pm 3.725\%$ ) et KO $\alpha 7$ -A $\beta_{O(1-42)}$  ( $69.047 \pm 5.667\%$ ) respectivement ( $p = 0.01$  ;  $p = 0.007$  ;  $p = 0.03$ ).

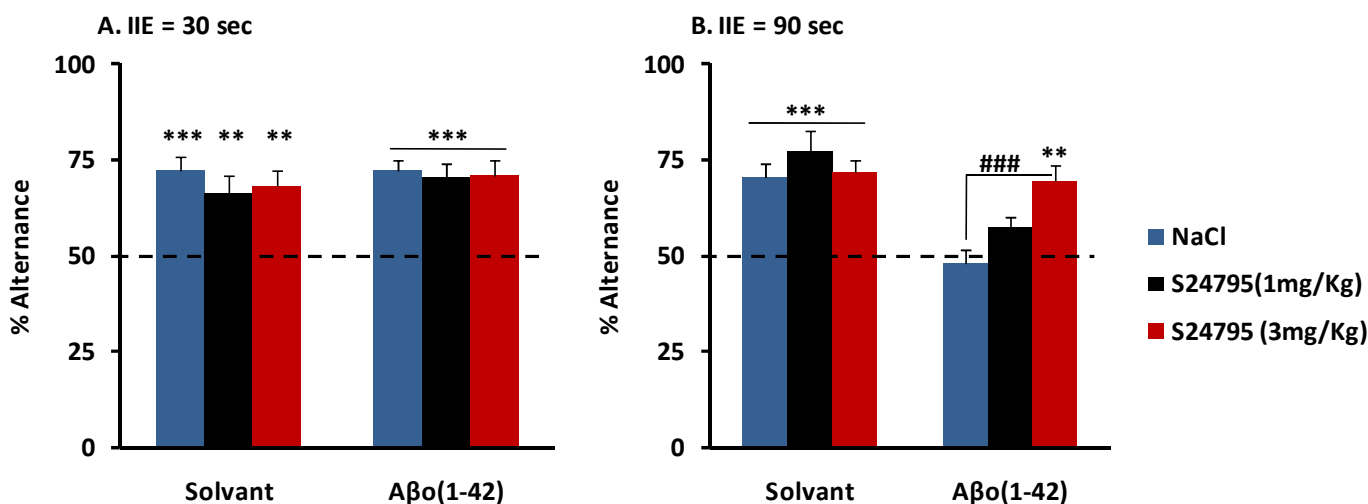
Dans leur ensemble, ces résultats confirment que les injections intra-dCA1 d'A $\beta_{O(1-42)}$  induisent des déficits de mémoire de travail dans une épreuve d'alternance spontanée lorsque celle-ci est évaluée 7 jours après la dernière injection. Ils démontrent également que les animaux dépourvus de récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs ne présentent pas de déficits cognitifs liés aux injections d'A $\beta_{O(1-42)}$  dans l'hippocampe.

Ceci suggère que les effets délétères à long-terme induits par les injections intra-dCA1 d'A $\beta_{O(1-42)}$  sur la mémoire de travail sont observés uniquement lorsque les récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs sont présents.

### **Expérience 3 Effets mnésiques et moléculaires d'un traitement chronique et systémique par un agoniste partiel des récepteurs $\alpha 7$ -nAChRs (S 24795)**

#### **Analyses comportementales**

La fig. 32 montre que le traitement chronique et systémique par l'agoniste partiel des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs (S 24795) permet de prévenir de manière dose-dépendante la perturbation de la mémoire de travail induite par les injections intra-dCA1 d'A $\beta_{O(1-42)}$  au cours d'une épreuve d'alternance spontanée.



**Fig. 32 : Alternance spontanée chez des souris ayant reçu des injections intra-hippocampiques de solvant ou d'Aβo<sub>(1-42)</sub> parallèlement à un traitement chronique de 10 jours (i.p) d'un agoniste partiel des récepteurs α7-nAChRs (S 24795) à deux doses ou de NaCl. A. Aucun déficit mnésique n'est observé chez les six groupes d'animaux lors de la session pré-test (IIE = 30 sec). B. Déficits d'alternances chez les animaux « Aβo<sub>(1-42)</sub>-NaCl » lors de la session test (IIE = 90 sec), qui sont compensés par le traitement au S 24795 à la dose de 3mg/Kg. Comparaison avec le hasard : \*\* :  $p < 0.01$  ; \*\*\* :  $p < 0.001$  ; Comparaison inter-groupe : ### :  $p < 0.001$**

Plus précisément, lors de la session pré-test (IIE = 30 sec) (Fig. 32A), l'ANOVA à deux facteurs confirme l'absence d'effet « Aβo<sub>(1-42)</sub> » ( $F_{(1,47)} = 0.437$  ;  $p = 0.51$ ), l'absence d'effet « S 24795 » ( $F_{(2,47)} = 0.495$  ;  $p = 0.61$ ) ainsi que l'absence d'interaction significative « Aβo<sub>(1-42)</sub> x S 24795 » ( $F_{(2,47)} = 0.121$  ;  $p = 0.88$ ). Les différents groupes d'animaux présentent des performances similaires significativement supérieures au hasard [Solvant-NaCl:  $(72.222 \pm 3.921\%)$  ;  $t(8) = 5.668$  ;  $p < 0.001$  ; Solvant-S 24795<sub>(1mg/Kg)</sub> :  $(66.675 \pm 4.45\%)$  ;  $t(7) = 3.747$  ;  $p = 0.007$  ; Solvant-S 24795<sub>(3mg/Kg)</sub> :  $(68.34 \pm 3.884\%)$  ;  $t(9) = 4.722$  ;  $p < 0.001$  ; Aβo<sub>(1-42)</sub>-NaCl:  $(72.233 \pm 2.767\%)$  ;  $t(8) = 8.036$  ;  $p < 0.001$  ; Aβo<sub>(1-42)</sub>-S 24795<sub>(1mg/Kg)</sub> :  $70.378 \pm 3.697\%$  ;  $t(8) = 5.513$  ;  $p < 0.001$  ; Aβo<sub>(1-42)</sub>-S 24795<sub>(3mg/Kg)</sub> :  $(70.838 \pm 4.159\%)$  ;  $t(7) = 5.01$  ;  $p < 0.001$ ].

En revanche, lorsque l'IIE est augmenté à 90 sec (Fig. 32B), l'ANOVA à deux facteurs révèle un effet « Aβo<sub>(1-42)</sub> » ( $F_{(1,47)} = 23.123$  ;  $p < 0.001$ ), un effet « S24795 » ( $F_{(2,47)} = 4.52$  ;  $p = 0.01$ ) ainsi qu'une interaction significative « Aβo<sub>(1-42)</sub> x S24795 » ( $F_{(2,47)} = 3.846$  ;  $p = 0.028$ ). L'interaction est due au fait que tous les animaux des groupes Solvant présentent des performances similaires quel que soit le traitement reçu ( $F_{(2,24)} = 0.678$  ;  $p = 0.51$ ) alors que les animaux des groupes Aβo<sub>(1-42)</sub> présentent des niveaux d'alternance différents ( $F_{(2,23)} = 9.326$  ;  $p < 0.001$ ), où seul le groupe Aβo<sub>(1-42)</sub>-NaCl répond au hasard ( $48.144 \pm 3.345\%$  ;  $t(8) = -0.555$  ;  $p = 0.59$ ). Les analyses *post hoc* confirment d'une part, que les animaux des

groupes  $A\beta_{(1-42)}$ -NaCl et  $A\beta_{(1-42)}$ -S24795<sub>(1mg/Kg)</sub> présentent des niveaux d'alternance significativement différents de leurs homologues Solvant (les deux  $p < 0.001$ ), alors que les animaux du groupe  $A\beta_{(1-42)}$ -S24795<sub>(3mg/Kg)</sub> ont des performances similaires à leurs Solvant ( $p = 0.59$ ) et d'autre part, que les animaux des groupes  $A\beta_{(1-42)}$ -NaCl et  $A\beta_{(1-42)}$ -S24795<sub>(1mg/Kg)</sub> présentent des niveaux d'alternance significativement inférieurs à ceux du groupe  $A\beta_{(1-42)}$ -S24795<sub>(3mg/Kg)</sub> (respectivement  $p < 0.001$  et  $p = 0.03$ ).

Dans leur ensemble, ces résultats confirment l'implication des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs dans les déficits mnésiques induits par les  $A\beta_{(1-42)}$  et suggèrent que la modulation pharmacologique de ces récepteurs par un agoniste partiel permettant de limiter l'interaction  $A\beta_{(1-42)}/\alpha 7$ -nAChRs est efficace pour restaurer les performances cognitives.

### **Analyses immunohistochimiques**

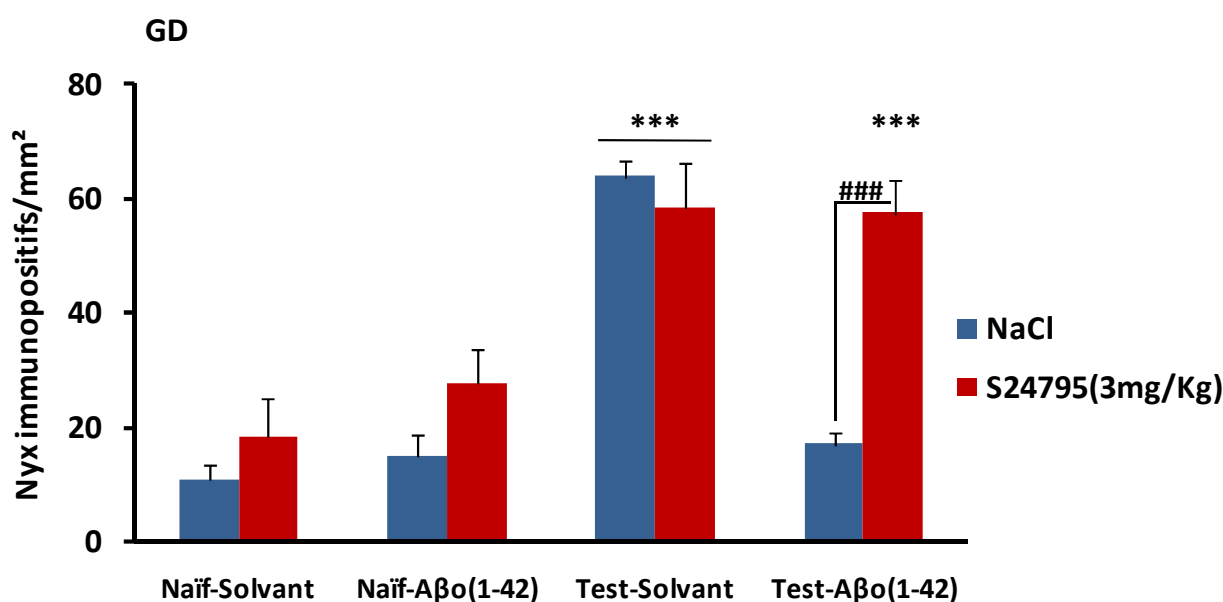
Dans le but d'évaluer les conséquences moléculaires du traitement chronique par le S24795<sub>(3mg/Kg)</sub> sur la voie MAPK/ERK, nous avons quantifié l'immunoréactivité pERK1/2 dans l'hippocampe (GD et CA3), le cortex préfrontal (PL et IL) et la région septale (SM et SL). Du fait de l'absence d'effet bénéfique sur la mémoire de travail du traitement S24795 à la dose de 1mg/Kg, les analyses immunohistochimiques ont été uniquement réalisées sur les animaux ayant reçu le S24795 à la dose de 3mg/Kg.

- **HPCd :** Les niveaux d'immunoréactivité pERK1/2 ont été mesurés dans le dCA1, le dCA3 et le GD. Cependant, l'immunoréactivité pERK1/2 étant en dessous du seuil de détection dans le dCA1 des groupes Test, les résultats présentés dans la partie suivante concernent uniquement le GD et le CA3.

#### **- Gyrus Denté (GD)**

La fig. 33 représente les niveaux d'immunoréactivité pERK1/2 dans le GD des groupes naïfs et tests ayant reçu un traitement NaCl ou S24795. L'ANOVA à deux facteurs effectuée chez les groupes d'animaux Naïf révèle une absence d'effet «  $A\beta_{(1-42)}$  » ( $F_{(1,16)} = 1.744$  ;  $p = 0.2$ ), une absence d'effet « S24795 » ( $F_{(1,16)} = 3.996$  ;  $p = 0.06$ ) ainsi qu'une interaction «  $A\beta_{(1-42)} \times$  S24795 » non significative ( $F_{(1,16)} = 0.265$  ;  $p = 0.61$ ). Par ailleurs, la Fig. 33 montre que le test d'alternance spontanée entraîne une augmentation significative de l'immunoréactivité pERK1/2 en comparaison aux animaux des groupes Naïf, excepté pour le groupe  $A\beta_{(1-42)}$ -NaCl. L'ANOVA à deux facteurs effectuée sur les différents groupes d'animaux Test révèle un effet «  $A\beta_{(1-42)}$  » ( $F_{(1,29)} = 22.341$  ;  $p < 0.001$ ), un effet « S24795 » ( $F_{(1,29)} = 12.094$  ;  $p < 0.001$ ) et une interaction «  $A\beta_{(1-42)} \times$  S24795 » significative ( $F_{(1,29)} =$

20.687;  $p < 0.0001$ ). L'interaction « $A\beta_{(1-42)}$  x S24795» est due au fait que le test augmente significativement pERK1/2 dans les groupes Solvant quel que soit le traitement, en comparaison avec leurs homologues Naïf (NaCl et S24795 :  $p < 0.0001$ ) alors que chez les groupes  $A\beta_{(1-42)}$ , seul le groupe S24795 présente une augmentation de pERK1/2 dans le GD par rapport à leurs homologues Naïf ( $p < 0.0001$ ). Les analyses *post hoc* confirment que l'immunoréactivité pERK1/2 est significativement supérieure dans les groupes Test-Solvant et le groupe Test- $A\beta_{(1-42)}$ -S24795 en comparaison avec le groupe Test- $A\beta_{(1-42)}$ -NaCl (tous les  $p < 0.001$ ).



**Fig. 33 :** Effets du S 24795<sub>(3mg/Kg)</sub> sur le niveau d'immunoréactivité pERK1/2 en fonction du traitement intra-dCA1 (Solvant *vs*  $A\beta_{(1-42)}$ ) reçu par les animaux dans le GD dorsal. Le test d'alternance spontanée induit une augmentation de pERK1/2 chez les animaux « Solvant » qui est abolie chez les animaux «  $A\beta_{(1-42)}$  ». Le traitement chronique par le S 24795<sub>(3mg/Kg)</sub> permet de restaurer pERK1/2 chez les animaux «  $A\beta_{(1-42)}$  » à un niveau similaire à celui des animaux des groupes « Solvant ». *Effet du test* \*\*\* :  $p < 0.001$  ; *comparaison inter-groupe* : ### :  $p < 0.001$

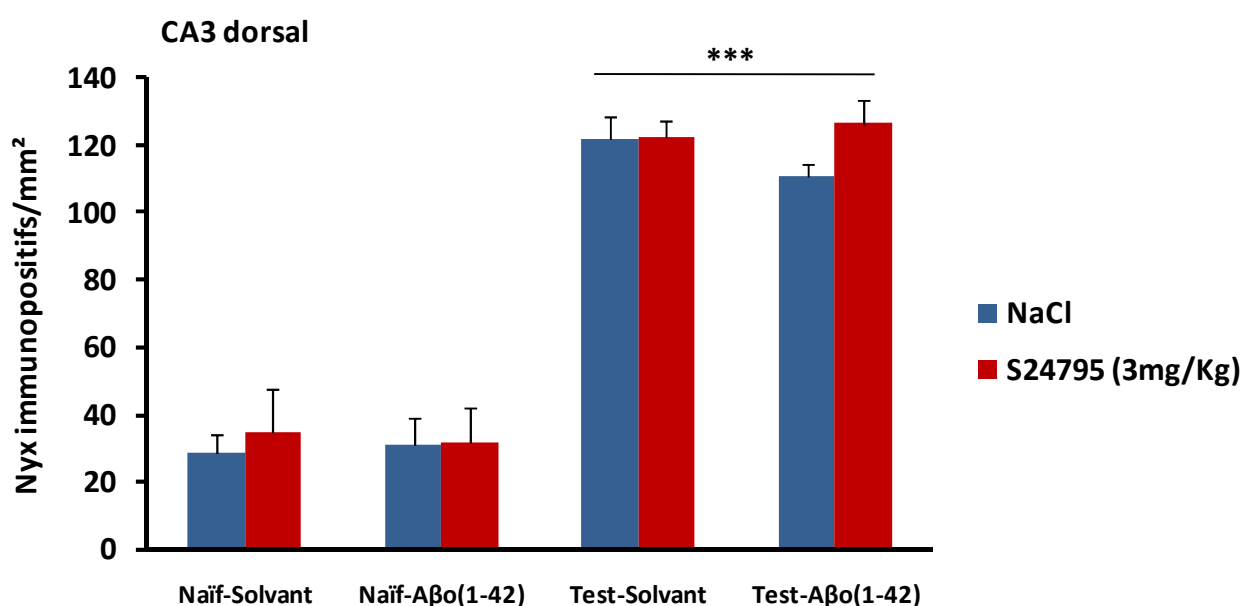
Ces résultats suggèrent que le traitement chronique et systémique par le S24795<sub>(3mg/Kg)</sub> permet de restaurer les niveaux d'activation de ERK1/2 préalablement inhibés par les  $A\beta_{(1-42)}$  dans le GD.

### - dCA3

La fig. 34 présente les niveaux d'immunoréactivité pERK1/2 dans le dCA3. L'ANOVA à deux facteurs effectuée chez les groupes d'animaux Naïf révèle une absence d'effet «  $A\beta_{(1-42)}$  » ( $F_{(1,16)} = 0.002$  ;  $p = 0.96$ ), une absence d'effet « S24795 » ( $F_{(1,16)} = 0.12$  ;  $p = 0.73$ ) ainsi qu'une absence d'interaction «  $A\beta_{(1-42)}$  x S24795 » ( $F_{(1,16)} = 0.082$  ;  $p = 0.77$ ). La Fig. 34 montre que le test d'alternance spontanée entraîne une augmentation significative

de l'immunoréactivité pERK1/2 en comparaison aux animaux des groupes Naïf. L'ANOVA à deux facteurs effectuée sur les groupes d'animaux Test révèle une absence d'effet «A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>» ( $F_{(1,30)} = 0.323$  ;  $p = 0.57$ ), une absence d'effet « S24795 » ( $F_{(1,30)} = 1.852$  ;  $p = 0.18$ ) ainsi qu'une absence d'interaction significative «A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> x S24795» ( $F_{(1,30)} = 1.587$  ;  $p = 0.21$ ).

Dans leur ensemble, ces résultats suggèrent d'une part, que le test d'alternance spontanée induit une activation de pERK1/2 dans le dCA3 et d'autre part, ils indiquent que les déficits mnésiques consécutifs aux injections d'A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> dans le dCA1 ne sont pas associés à une perturbation d'activation de ERK1/2 dans le dCA3 et également que la modulation pharmacologique des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs n'a pas d'effet dans cette structure.



**Fig. 34 : Effets du S 24795<sub>(3mg/Kg)</sub> sur pERK1/2 en fonction du traitement intra-dCA1 (Solvant vs A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>) reçu par les animaux dans le dCA3. Le test d'alternance spontanée induit une augmentation de pERK1/2 dans le dCA3. Les injections d'A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> dans l'HPCd ainsi que le traitement chronique par le S24795<sub>(3mg/Kg)</sub> n'ont pas d'effet sur l'immunoréactivité pERK1/2 dans cette structure. Effet du test : \*\*\* :  $p < 0.001$ .**

Comme dans le Chapitre I, nous avons analysé les niveaux d'immunoréactivité pERK1/2 au sein de structures impliquées dans la mémoire de travail et en relation avec l'HPC que sont le CPFm et le septum.

#### - Le CPFm : pERK1/2 dans le PL (Fig. 35a) et l'IL (Fig. 35b)

La fig. 35 représente les niveaux d'immunoréactivité pERK1/2 dans le PL et l'IL des animaux Naïf et Test.

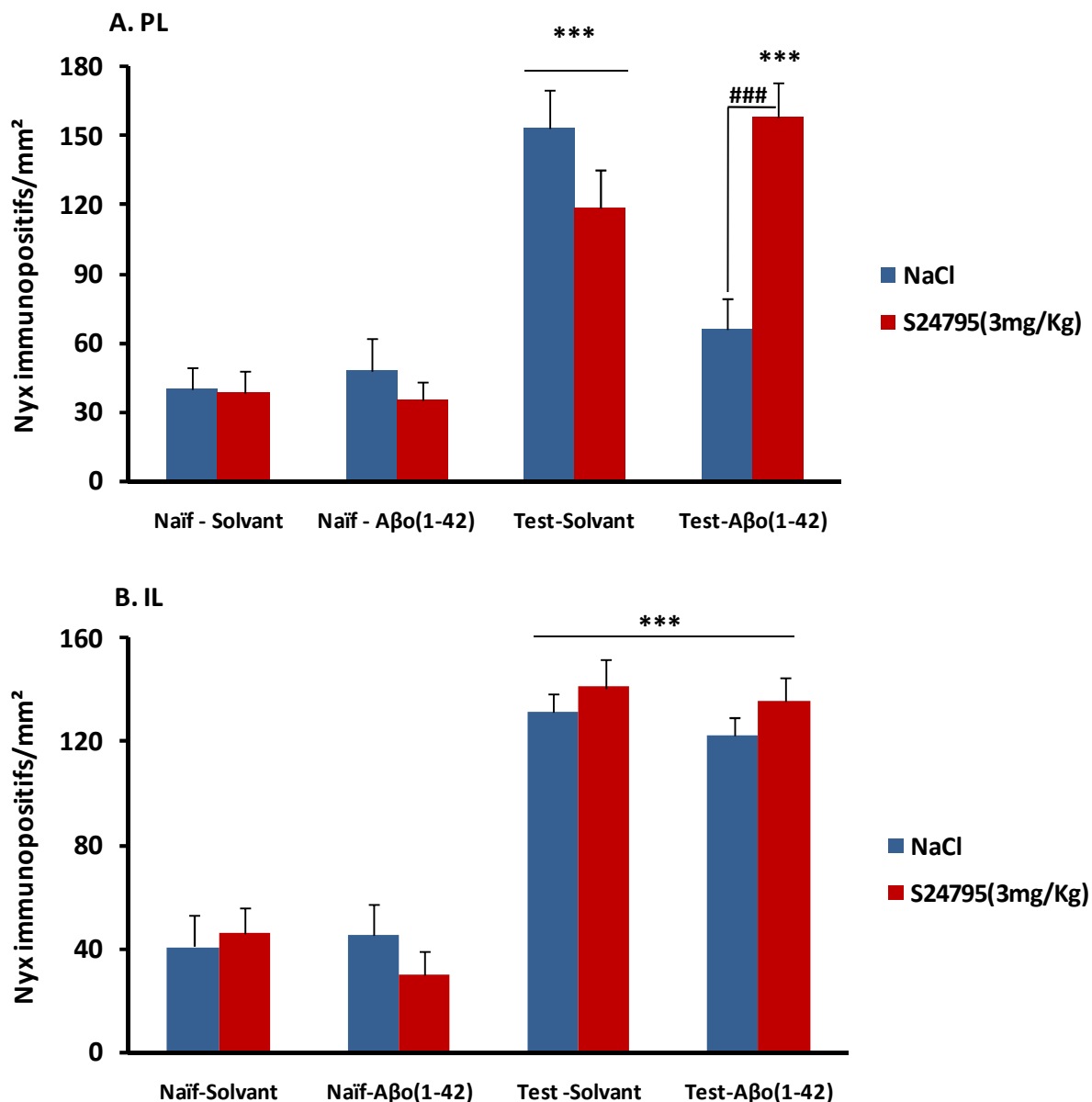
L'ANOVA à deux facteurs effectuée chez les groupes d'animaux Naïf révèle dans ces deux structures une absence d'effet «  $A\beta_{(1-42)}$  » [PL : ( $F_{(1,16)} = 0.053$  ;  $p = 0.82$ ) ; IL : ( $F_{(1,16)} = 0.293$  ;  $p = 0.59$ )], une absence d'effet « S24795 » [PL : ( $F_{(1,16)} = 0.429$  ;  $p = 0.52$ ) ; IL : ( $F_{(1,16)} = 0.219$  ;  $p = 0.64$ )] ainsi qu'une absence d'interaction «  $A\beta_{(1-42)} \times S24795$  » [PL : ( $F_{(1,16)} = 0.264$  ;  $p = 0.61$ ) ; IL : ( $F_{(1,16)} = 0.928$  ;  $p = 0.34$ )]. Par ailleurs, le test de mémoire de travail induit une augmentation globale de l'immunoréactivité pERK1/2 en comparaison aux animaux des groupes Naïf dans ces deux structures, excepté dans le groupe Test- $A\beta_{(1-42)}$ -NaCl dans le PL.

En effet, dans le PL, l'ANOVA à deux facteurs effectuée sur les groupes d'animaux Test révèle une absence d'effet «  $A\beta_{(1-42)}$  » ( $F_{(1,30)} = 2.393$  ;  $p = 0.13$ ), une absence d'effet « S24795 » ( $F_{(1,30)} = 3.571$  ;  $p = 0.06$ ) mais une interaction significative «  $A\beta_{(1-42)} \times S24795$  » ( $F_{(1,30)} = 16.889$  ;  $p < 0.001$ ). L'interaction «  $A\beta_{(1-42)} \times S24795$  » est due au fait que le test augmente significativement l'immunoréactivité pERK1/2 dans les groupes Solvant quel que soit le traitement en comparaison avec leurs homologues Naïf (NaCl et S24795 : les deux  $p < 0.001$ ) alors que dans les groupes  $A\beta_{(1-42)}$  seuls les animaux traités au S24795 sont augmentés ( $p < 0.001$ ). Les analyses *post hoc* confirment que l'immunoréactivité pERK1/2 est significativement supérieure dans les groupes Test-Solvant et le groupe Test- $A\beta_{(1-42)}$ -S24795 en comparaison avec le groupe Test- $A\beta_{(1-42)}$ -NaCl (tous les  $p < 0.001$ ).

En revanche dans l'IL, l'ANOVA à deux facteurs ne révèle ni d'effet «  $A\beta_{(1-42)}$  » ( $F_{(1,30)} = 0.681$  ;  $p = 0.41$ ), ni d'effet « S24795 » ( $F_{(1,30)} = 1.682$  ;  $p = 0.2$ ), ni d'interaction «  $A\beta_{(1-42)} \times S24795$  » significative ( $F_{(1,30)} = 0.047$  ;  $p = 0.82$ ).

Dans leur ensemble, ces résultats suggèrent que le test induit une activation de ERK1/2 dans les deux sous-structures du CPFm (PL et IL). Nous montrons également que les déficits de mémoire de travail induits par les injections intra-dCA1 d' $A\beta_{(1-42)}$  s'accompagnent d'une absence d'activation de ERK1/2 uniquement dans le PL, qui est restaurée par le S24795.



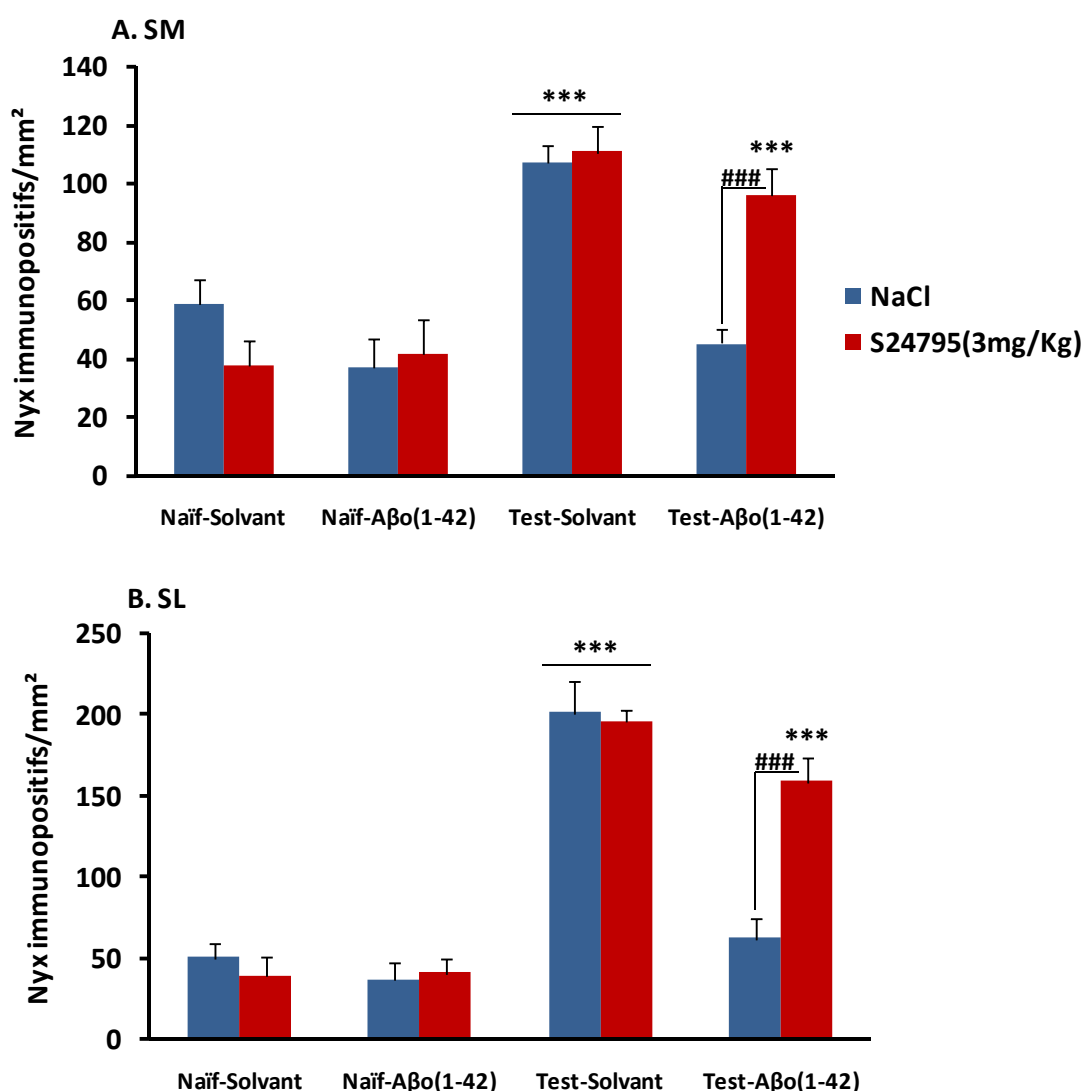


**Fig. 35 :** Effets du S 24795<sub>(3mg/Kg)</sub> sur l'immunoréactivité pERK1/2 en fonction du traitement intra-dCA1 (Solvant *vs* Aβ<sub>(1-42)</sub>) reçu par les animaux dans le CPFm. **A. PL :** Le test d'alternance spontanée induit une augmentation de pERK1/2 qui est inhibée chez les animaux du groupe «Test-Aβ<sub>(1-42)</sub> ». Le traitement pharmacologique par le S 24795<sub>(3mg/Kg)</sub> chez les animaux des groupes «Test-Aβ<sub>(1-42)</sub> » permet de restaurer pERK1/2 au niveau des animaux des groupes « Test-Solvant ». **B. IL :** Le test d'alternance induit une augmentation de pERK1/2 qui n'est pas modulée par les injections intra-hippocampiques d'Aβ<sub>(1-42)</sub> ou par le S24795<sub>(3mg/Kg)</sub>. *Effet du test \*\*\* : p<0.001 ; Comparaisons inter-groupe :### : p<0.001.*

#### - Le septum : pERK1/2 dans le SM et le SL

La fig. 36 représente les niveaux d'immunoréactivité pERK1/2 dans le SM (Fig. 36A) et le SL (Fig. 36B) des animaux Naïf et Test.

L'ANOVA à deux facteurs effectuée sur les groupes d'animaux Naïf révèle pour ces deux structures, une absence d'effet «  $A\beta_{(1-42)}$  » [SM : ( $F_{(1,16)} = 0.787$  ;  $p = 0.38$ ) ; SL : ( $F_{(1,16)} = 0.311$  ;  $p = 0.58$ )], une absence d'effet « S24795 » [SM : ( $F_{(1,16)} = 0.716$  ;  $p = 0.41$ ) ; SL : ( $F_{(1,16)} = 0.099$  ;  $p = 0.75$ )] ainsi qu'une absence d'interaction «  $A\beta_{(1-42)} \times$  S24795 » [SM : ( $F_{(1,16)} = 1.686$  ;  $p = 0.21$ ) ; SL : ( $F_{(1,16)} = 0.527$  ;  $p = 0.47$ )]. Par ailleurs, la fig. 36 montre que de manière globale, le test d'alternance induit une augmentation de l'immunoréactivité pERK1/2 dans ces deux structures en comparaison aux animaux des groupes Naïf excepté pour le groupe Test- $A\beta_{(1-42)}$ -NaCl.



**Fig. 36 : Effets du S24795<sub>(3mg/Kg)</sub> sur l'immunoréactivité pERK1/2, dans le septum en fonction du traitement intra-dCA1 (Solvant vs  $A\beta_{(1-42)}$ ) reçu par les animaux. Le test d'alternance spontanée induit une augmentation de pERK1/2 qui est inhibée chez les animaux du groupe « Test- $A\beta_{(1-42)}$  ». Le traitement pharmacologique par le S24795<sub>(3mg/Kg)</sub> chez les animaux du groupe « Test- $A\beta_{(1-42)}$  » permet de restaurer pERK1/2 au niveau des animaux des groupes « Solvant » à la fois dans le SM (A) et dans le SL (B). Effet du test \*\*\* :  $p < 0.001$  ; Comparaisons inter-groupe : ### :  $p < 0.001$ .**

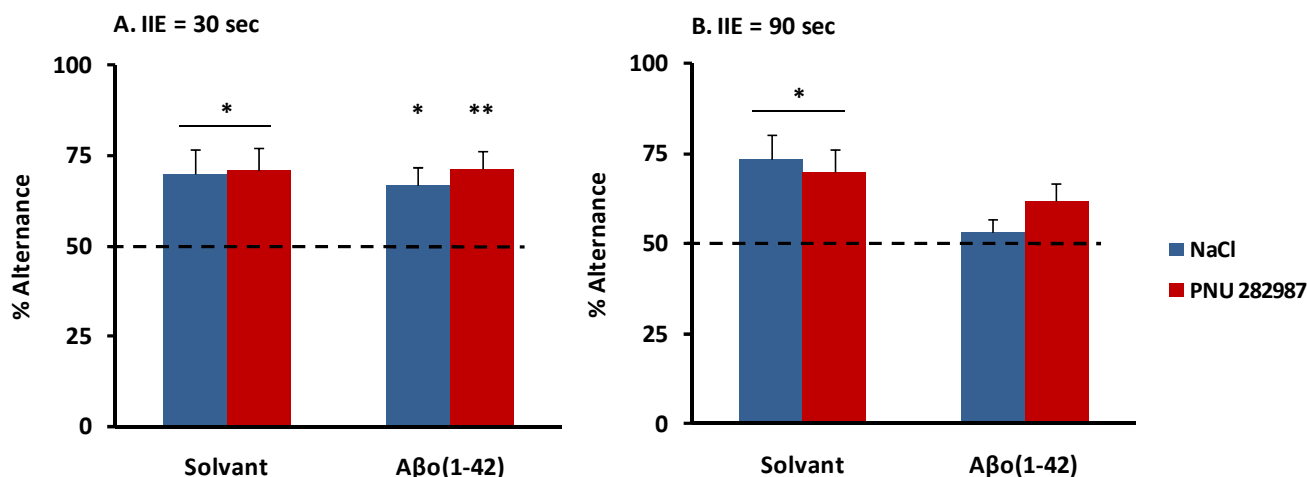
Les ANOVA à deux facteurs effectuées sur les groupes d'animaux Test révèlent dans ces deux structures un effet «  $A\beta_{O(1-42)}$  » [SM : ( $F_{(1,29)} = 25.971$  ;  $p < 0.0001$ ) ; SL : ( $F_{(1,30)} = 36.475$  ;  $p < 0.0001$ )], un effet « S24795 » [SM : ( $F_{(1,29)} = 13.173$  ;  $p = 0.001$ ) ; SL : ( $F_{(1,30)} = 9.770$  ;  $p = 0.003$ )] et une interaction significative «  $A\beta_{O(1-42)} \times S24795$  » [SM : ( $F_{(1,29)} = 9.820$  ;  $p = 0.003$ ) ; SL : ( $F_{(1,30)} = 12.311$  ;  $p = 0.0014$ )]. L'interaction est due au fait que dans ces deux structures, le test augmente de manière significative l'immunoréactivité pERK1/2 dans les groupes Solvant quel que soit le traitement, en comparaison avec leurs homologues Naïf (tous les  $p < 0.001$ ), alors que pour les groupes  $A\beta_{O(1-42)}$  seul le groupe traité au S24795 est augmenté (les deux  $p < 0.001$ ). Les analyses *post hoc* confirment que l'immunoréactivité pERK1/2 est significativement supérieure dans les groupes Test-Solvant et le groupe Test- $A\beta_{O(1-42)}$ -S24795 en comparaison avec le groupe Test- $A\beta_{O(1-42)}$ -NaCl dans le SM et le SL (tous les  $p < 0.001$ ).

Dans leur ensemble, ces résultats suggèrent d'une part que le test de mémoire de travail induit une augmentation de ERK1/2 phosphorylé dans le SM et le SL, qui est abolie chez les animaux ayant reçu des injections d' $A\beta_{O(1-42)}$  dans le dCA1. Cependant, l'administration d'un agoniste partiel des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs le S24795 permet de restaurer le niveau de pERK1/2 préalablement perturbé par l'injection d' $A\beta_{O(1-42)}$  dans ces deux structures.

#### **Expérience 4: Effets du traitement chronique et systémique par un agoniste complet (PNU 282987) des récepteurs $\alpha 7$ -nAChRs sur la mémoire de travail**

La Fig. 37 présente les niveaux d'alternance des groupes d'animaux Solvant et  $A\beta_{O(1-42)}$  ayant reçu un traitement NaCl ou PNU282987. Les performances ont été analysées pour un IIE de 30 sec (A) et de 90 sec (B).

Lors de la session pré-test (IIE = 30 sec), l'ANOVA à deux facteurs ne révèle pas d'effet «  $A\beta_{O(1-42)}$  » ( $F_{(1,18)} = 0.212$  ;  $p = 0.65$ ), ni d'effet « PNU282987 » ( $F_{(1,18)} = 0.208$  ;  $p = 0.65$ ) ni d'interaction «  $A\beta_{O(1-42)} \times PNU282987$  » significative ( $F_{(1,18)} = 0.065$  ;  $p = 0.8$ ). Les performances sont similaires entre les différents groupes d'animaux (Fig. 37A) et supérieures au hasard (i.e 50%) [Solvant-NaCl : ( $72.34 \pm 4.066\%$  ;  $t(4) = 5.74$  ;  $p = 0.004$ ) ; Solvant-PNU282987 : ( $70.02 \pm 3.32\%$  ;  $t(4) = 6.03$  ;  $p = 0.003$ ) ;  $A\beta_{O(1-42)}$ -NaCl : ( $70 \pm 6.227\%$  ;  $t(4) = 3.212$  ;  $p = 0.03$ ) ;  $A\beta_{O(1-42)}$ -PNU282987 : ( $69.057 \pm 4.34\%$  ;  $t(6) = 4.391$  ;  $p = 0.004$ )].



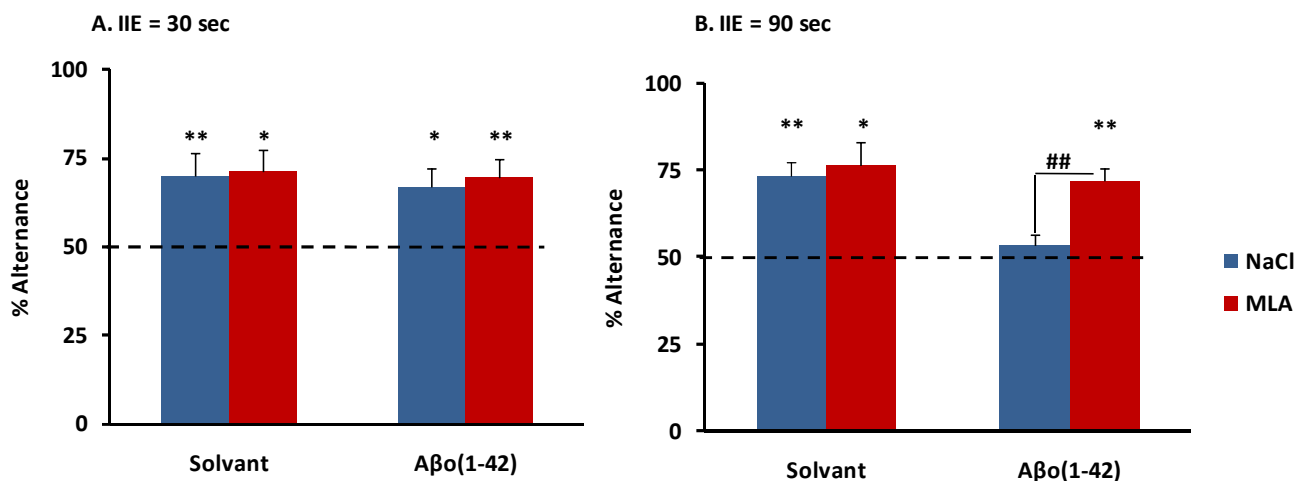
**Fig. 37 : Alternance spontanée chez des souris ayant reçu des injections intra-dCA1 de Solvant ou d'Aβo<sub>(1-42)</sub> parallèlement à un traitement chronique de 10 jours (i.p) d'un agoniste spécifique des récepteurs α7-nAChRs PNU 282987<sub>(3mg/Kg)</sub>. A. Aucun déficit mnésique n'est observé quel que soit le groupe considéré lors de la session pré-test (IIE = 30 sec). B. Les animaux « Aβo<sub>(1-42)</sub>-NaCl » présentent des déficits d'alternance lors de la session test (IIE = 90 sec) qui ne sont pas compensés par le PNU 282987<sub>(3mg/Kg)</sub>. Comparaison avec le hasard : \* :  $p < 0.05$  ; \*\* :  $p < 0.01$ .**

En revanche, lors de la session test (IIE = 90 sec) (Fig. 37B), l'ANOVA à deux facteurs révèle la présence d'un effet significatif « Aβo<sub>(1-42)</sub> » ( $F_{(1,18)} = 6.728$  ;  $p = 0.01$ ), l'absence d'effet significatif « PNU282987 » ( $F_{(1,18)} = 0.236$  ;  $p = 0.63$ ) ainsi que l'absence d'interaction « Aβo<sub>(1-42)</sub> x PNU282987 » significative ( $F_{(1,18)} = 1.208$  ;  $p = 0.28$ ). De fait, les animaux des groupes Aβo<sub>(1-42)</sub>-NaCl et Aβo<sub>(1-42)</sub>-PNU282987 présentent des performances au niveau du hasard, respectivement ( $53.34 \pm 3.334\%$  ;  $t(4) = 1.000$  ;  $p = 0.37$  ;  $61.914 \pm 4.761\%$  ;  $t(6) = 2.502$  ;  $p = 0.051$ ) contrairement aux animaux des groupes Solvant.

Ainsi, nos données suggèrent que le traitement chronique et systémique par le PNU282987 ne permet pas de prévenir les déficits de mémoire de travail chez les animaux du groupe Aβo<sub>(1-42)</sub>.

### **Expérience 5 : Effets du traitement chronique et systémique par un antagoniste complet (Méthyllycaconitine - MLA) des récepteurs α7-nAChRs sur la mémoire de travail.**

La Fig. 38 présente les niveaux d'alternance des groupes d'animaux Solvant et Aβo<sub>(1-42)</sub> ayant reçu un traitement NaCl ou MLA. Les performances d'alternance ont été évaluées pour un IIE de 30 sec (A) et de 90 sec (B).



**Fig. 38 : Alternance spontanée chez des souris ayant reçu des injections intra-dCA1 de Solvant ou d'Aβo<sub>(1-42)</sub> parallèlement à un traitement chronique de 10 jours (i.p) d'un antagoniste spécifique des récepteurs α7-nAChRs MLA<sub>(3mg/Kg)</sub>. A. Aucun déficit mnésique n'est observé chez les groupes d'animaux évalués lors de la session pré-test (IIE = 30 sec). B. Les déficits d'alternance du groupe Aβo<sub>(1-42)</sub>-NaCl sont compensés par le traitement MLA<sub>(3mg/Kg)</sub>. Comparaison avec le hasard : \* :  $p < 0.05$  ; \*\* :  $p < 0.01$  ; Comparaisons inter-groupe : ## :  $p < 0.01$**

Les analyses statistiques indiquent que lors de la session pré-test (IIE = 30 sec) les différents groupes d'animaux ont des performances similaires et significativement supérieures au hasard (i.e 50%) [Solvant-NaCl :  $(73.320 \pm 6.658\%)$  ;  $t(4) = 3.503$  ;  $p = 0.02$ ) ; Solvant-MLA :  $(73.34 \pm 4.066\%)$  ;  $t(4) = 5.74$  ;  $p = 0.004$ ) ; Aβo<sub>(1-42)</sub>-NaCl :  $(72.233 \pm 3.5\%)$  ;  $t(5) = 6.353$  ;  $p = 0.001$ ) ; Aβo<sub>(1-42)</sub>-MLA :  $(73.8 \pm 4.948\%)$  ;  $t(6) = 4.81$  ;  $p = 0.003$ ]. L'ANOVA à deux facteurs confirme l'absence d'effet « Aβo<sub>(1-42)</sub> » ( $F_{(1,19)} = 0.004$  ;  $p = 0.95$ ), d'effet « MLA » ( $F_{(1,19)} = 0.026$  ;  $p = 0.87$ ) et d'interaction « Aβo<sub>(1-42)</sub> x MLA » ( $F_{(1,19)} = 0.025$  ;  $p = 0.87$ ) (Fig. 38A)

En revanche, lors de la session test (IIE = 90 sec) (Fig. 38B) seuls les animaux du groupe Aβo<sub>(1-42)</sub>-NaCl répondent au hasard ( $52.783 \pm 2.783\%$  ;  $t(5) = 1$  ;  $p = 0.36$ ). L'ANOVA à deux facteurs révèle une absence d'effet « Aβo<sub>(1-42)</sub> » ( $F_{(1,19)} = 3.389$  ;  $p = 0.08$ ) un effet « MLA » significatif ( $F_{(1,19)} = 5.918$  ;  $p = 0.02$ ) ainsi qu'une interaction « Aβo<sub>(1-42)</sub> x MLA » significative ( $F_{(1,19)} = 5.918$  ;  $p = 0.02$ ). Cette interaction indique que les animaux des groupes Solvant présentent des niveaux d'alternance similaires quel que soit le traitement reçu alors que les animaux du groupe Aβo<sub>(1-42)</sub>-NaCl présentent des performances inférieure à celles du groupe Aβo<sub>(1-42)</sub>-MLA différentes ( $F_{(1,11)} = 27.616$  ;  $p < 0.001$ ). Les analyses *post hoc* confirment d'une part, que les animaux du groupe Aβo<sub>(1-42)</sub>-NaCl ont des niveaux d'alternance significativement inférieurs à leurs homologues Solvant ( $p = 0.007$ ) alors que les performances sont similaires entre les animaux des groupes Solvant-MLA et Aβo<sub>(1-42)</sub>-MLA

( $p = 0.67$ ) et d'autre part, que les animaux du groupe  $A\beta_{(1-42)}$ -NaCl présentent des performances significativement inférieures à celles du groupe  $A\beta_{(1-42)}$ -MLA ( $p = 0.0016$ ).

Dans leur ensemble, ces résultats montrent que le traitement par la MLA permet de prévenir les déficits mnésiques induits par les injections intra-dCA1 d' $A\beta_{(1-42)}$ , dans l'épreuve d'alternance séquentielle spontanée.

#### IV. Discussion :

Cette étude avait pour but de tester la validité de l'hypothèse selon laquelle les  $A\beta_{(1-42)}$  auraient une action antagoniste vis-à-vis des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs. Pour cela, nous avons cherché à montrer d'une part l'implication du système cholinergique dans les déficits mnésiques et moléculaires induits par les injections intra-dCA1 d' $A\beta_{(1-42)}$  lors du test d'alternance séquentielle spontanée, et d'autre part, à préciser le rôle joué par les récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs dans ces déficits.

Les résultats obtenus sont globalement conformes à l'hypothèse. Ils montrent que :

- 1- L'expression de la ChAT est fortement diminuée dans l'hippocampe et le septum, mais pas dans le cortex préfrontal et le striatum après des injections intra-dCA1 d' $A\beta_{(1-42)}$ .
- 2- Les injections intra-dCA1 d' $A\beta_{(1-42)}$  n'induisent pas de déficits mnésiques à long terme en mémoire de travail spatiale lorsque les récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs ne sont pas exprimés (souris KO $\alpha 7$ ).
- 3- Les traitements chroniques systémiques par un agoniste partiel et un antagoniste complet spécifique des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs permettent de prévenir les déficits mnésiques résultant des injections intra-hippocampiques d' $A\beta_{(1-42)}$ , alors que le traitement par l'agoniste spécifique n'a aucun effet sur les performances mnésiques.
- 4- Les déficits de performance des animaux ayant reçu des injections intra-dCA1 d' $A\beta_{(1-42)}$  sont associés à un défaut d'activation de ERK1/2 dans le DG, le PL, le septum mais pas dans le dCA3 ni dans l'IL (confirmation des résultats du chapitre I). L'activation de ERK1/2 est restaurée dans ces mêmes structures par l'agoniste partiel des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs (S24795<sub>(3mg/Kg)</sub>) qui réduit significativement les déficits mnésiques.

**Dans leur ensemble, nos résultats confirment que les effets à long-terme des injections d' $A\beta_{(1-42)}$  dans le dCA1 provoquent des déficits de la mémoire de travail (Cf : Chapitre I) ainsi qu'une perturbation durable du système cholinergique au niveau de la**

**voie hippocampo-septale. Ils sont en accord avec l'hypothèse formulée selon laquelle les  $A\beta_{(1-42)}$  induiraient des effets délétères, tant au niveau mnésique que moléculaire, par le biais de leur fixation aux récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs.**

Les données moléculaires montrant une diminution de l'expression de la ChAT dans l'HPCd et le septum 7 jours après la dernière injection hippocampique d' $A\beta_{(1-42)}$  sont cohérentes avec les observations précliniques, montrant une diminution de l'expression ChAT dans l'HPC chez des souris APP et KO $\alpha 7$ -nAChRs (Hernandez et al., 2010). Nos résultats sont également en accord avec des observations cliniques, effectuées chez le sujet âgé ou atteint de MA et souffrant de troubles mnésiques (Whitehouse et al., 1982 ; Gill et al., 2007). La ChAT étant responsable de la synthèse d'ACh au niveau pré-synaptique (*Cf: Introduction générale. Partie 3.1.1*), la diminution de son expression au niveau hippocampique et septal entraîne une diminution du taux d'ACh. Or, l'ACh est fortement impliquée dans ces deux structures dans les processus de mémoire de travail ce qui a notamment été démontré par une augmentation de la libération d'ACh dans l'HPC au cours d'une épreuve d'alternance renforcée en labyrinthe en T (Fadda et al., 1996).

Cependant, nous avons montré que les souris KO $\alpha 7$ - $A\beta_{(1-42)}$  ne présentaient pas de déficits de mémoire de travail 7 jours après la dernière injection en comparaison avec leurs homologues WT. Ces résultats suggèrent d'une part, que les déficits mnésiques observés ne peuvent pas être entièrement expliqués par la diminution de la synthèse d'ACh, et d'autre part, que ces déficits de mémoire de travail consécutifs à l'injection intra-dCA1 d' $A\beta_{(1-42)}$ , interviendraient *via* un mécanisme dépendant des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs. Nos résultats sont cohérents avec des travaux menés sur des souris transgéniques APP- $\alpha 7$ KO (surexprimant le gène APP mais n'exprimant pas les récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs) âgées de 13 et 16 mois, qui ne présentent pas de déficits de mémoire spatiale (Dziewczapolski et al., 2009). Cependant, le rôle joué par les récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs dans les déficits mnésiques induits par les peptides amyloïdes n'est pas encore bien caractérisé puisque d'autres études ont montré que l'absence de ces récepteurs chez la souris Tg2576 âgée de 5 mois potentialisait bien au contraire les déficits mnésiques dans une tâche de conditionnement contextuel à la peur dépendante de l'HPC (Hernandez et al., 2010).

Afin de comprendre plus précisément comment les récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs participent aux effets délétères induits par les  $A\beta_{(1-42)}$  d'un point de vue mnésique et moléculaire, nous avons entrepris de moduler pharmacologiquement ces récepteurs *via* l'utilisation de molécules agissant comme agoniste partiel, agoniste ou antagoniste complet. Les traitements chroniques

et systémiques par un agoniste partiel ainsi que par un antagoniste complet des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs permettent d'améliorer les performances en mémoire de travail des souris «  $A\beta_{(1-42)}$  » alors que de manière surprenante, le traitement par un agoniste complet et spécifique de ces récepteurs n'induit aucune amélioration. Ce dernier résultat est surprenant au vue des données de la littérature qui montrent une amélioration des performances cognitives par l'administration d'agoniste des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs dans différents tests de mémoire effectués chez le rongeur (Meyer et al., 1998 ; Boess et al., 2007 ; Beracochea et al., 2008), le singe (Buccafusco et al., 2007) ainsi que chez l'Homme (Olincy et al., 2006) alors que le traitement par un antagoniste de ces récepteurs induit des perturbations mnésiques. Cependant, dans notre étude, les performances mnésiques des animaux sont évaluées 7 jours après la dernière injection d' $A\beta_{(1-42)}$  et 4 jours après le traitement pharmacologique (Fig. 30) ce qui suggère, au vue de la demi-vie cérébrale des produits utilisés chez la souris (Stegeilmeir et al., 2003 ; Hajos et al., 2005), que les effets bénéfiques sur la mémoire ne peuvent pas être expliqués par un effet pharmacologique direct du traitement.

Dans ce contexte, plusieurs hypothèses pourraient être explorées afin de comprendre le ou les mécanismes par lesquels les  $A\beta_{(1-42)}$  ainsi que les différents traitements pharmacologiques induisent leurs effets à long terme.

L'une de ces hypothèses est le modèle allostérique des récepteurs nicotiques élaboré dans un premier temps sur les récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs (Changeux et al., 1984) qui permet de faire la distinction entre la fonction de la liaison d'un ligand sur un récepteur et la fonction de l'état du récepteur (Edelstein et Changeux, 1996). Ceci suggère que l'effet d'un traitement pharmacologique ciblant les récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs dépend de l'état basal du récepteur, ce qui pourrait expliquer que le traitement par l'antagoniste complet MLA ait un effet fonctionnel agoniste permettant de faciliter les fonctions mnésiques. En effet, il a été démontré sur des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs mutés présentant une augmentation de leur sensibilité à leur ligand, que l'application d'un antagoniste compétitif de ces récepteurs avait un effet agoniste partiel (Bertrand et al., 1996 ; Bertrand et al., 1992) ce qui semble être cohérent avec la présence d'un effet identique entre les traitements agoniste partiel et antagoniste dans notre étude. Cette hypothèse pourrait également expliquer le fait que la fixation des  $A\beta_{(1-42)}$  induit une inactivation à long terme des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs. En effet, ces récepteurs sont capables suite à l'exposition chronique d'un agoniste de changer de conformation structurelle et de rester dans un état « bloqué » à long terme (Taly et al., 2009).

Cependant, nos résultats pourraient également s'expliquer par le principe d'homéostasie synaptique qui, afin de compenser la diminution de la libération de l'ACh au



niveau hippocampique et septal induirait une augmentation de l'externalisation des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs les rendant ainsi plus sensibles (Buisson et Bertrand, 2002 ; Giniatullin et al., 2005). Cette augmentation de l'expression membranaire des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs, également retrouvée chez des modèles murins transgéniques de la MA ainsi que chez des patients atteints de MA (Counts et al., 2007 ; Dineley et al., 2002 ; Ikonovic et al., 2009) augmenterait ainsi le nombre de sites de fixation des  $A\beta_{(1-42)}$  sur les récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs induisant une augmentation excessive d'influx  $Ca^{2+}$  pouvant conduire à une excitotoxicité neuronale. Dans ces conditions, le traitement par un antagoniste compétitif des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs permettrait de limiter l'interaction  $A\beta_{(1-42)}/\alpha 7$ -nAChRs et par conséquent de préserver l'homéostasie calcique intra-neuronale responsable des déficits mnésiques observés alors que le traitement par un agoniste complet de ces récepteurs contribuerait à l'excitotoxicité neuronale.

Enfin, au niveau moléculaire nous avons montré que le traitement par le S 24795 permet de restaurer les niveaux d'activation de pERK1/2 préalablement perturbés par les injections intra-dCA1 d' $A\beta_{(1-42)}$  au niveau de l'HPCd (GD mais pas CA3), du CPFm (PL mais pas IL) et du septum (SM et SL). Ces résultats suggèrent que le traitement par l'agoniste partiel des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs permet de restaurer plus spécifiquement les circuits neuronaux impliqués dans la mémoire de travail, et qui sont affectés par les injections d' $A\beta_{(1-42)}$  (*cf Chapitre I*). Ces résultats sont en accord avec les études *in vitro* montrant que les effets délétères liés aux  $A\beta_{(1-42)}$  sur la régulation de la voie ERK/MAPK s'effectuent par un mécanisme dépendant des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs (Dineley et al., 2001 ; Young et al., 2009).

En conclusion, nos résultats renforcent l'hypothèse selon laquelle les  $A\beta_{(1-42)}$  induisent une perturbation du système cholinergique qui s'exerce par l'intermédiaire des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs, en altérant la voie de signalisation ERK/MAPK. De plus, il semblerait que les  $A\beta_{(1-42)}$  induisent une inactivation durable des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs, responsables des perturbations mnésiques et moléculaires observées. Ces perturbations seraient compensées par l'utilisation de traitements agoniste partiel et antagoniste de ces récepteurs. Enfin, nos résultats semblent suggérer que les  $A\beta_{(1-42)}$  induisent une modification fonctionnelle des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs, bien que les mécanismes par lesquels les  $A\beta_{(1-42)}$  ainsi que les traitements pharmacologiques utilisés exercent leurs effets, restent à éclaircir.

# **DISCUSSION GENERALE**



La compréhension des mécanismes cellulaires et moléculaires conduisant à la physiopathologie de la MA constitue un axe de recherche majeur dans le domaine des neurosciences, répondant à une demande sociale et économique importante. Cependant, malgré le nombre conséquent d'études menées, et les découvertes effectuées au cours des dernières décennies, les traitements visant à ralentir ou à stopper la progression de la maladie montrent à ce jour une efficacité limitée. Les principales difficultés concernant l'étude de cette pathologie émanent à la fois :

(1) de ses caractéristiques intrinsèques : la MA est d'origine multifactorielle, et bien que les symptômes entre les formes familiales et sporadiques soient identiques, ceux-ci ne reposent pas sur les mêmes mécanismes. Par ailleurs, l'incertitude demeure sur l'importance relative des dépôts amyloïdes et des dégénérescences neurofibrillaires consécutives à une accumulation de protéine tau, dans l'étiopathologie de cette maladie. Enfin, en ce qui concerne l'hypothèse amyloïde, la nature ainsi que l'état d'agrégation du peptide A $\beta$  semblent jouer un rôle important dans les processus d'évolution de la pathologie. Outre ces considérations génétiques et moléculaires, nous avons vu que la MA n'atteint pas les différentes formes de mémoire avec la même intensité ni la même précocité. Toutes ces caractéristiques étiopathologiques contribuent à la diversité des résultats observés dans la littérature.

(2) de la difficulté de transposition des modèles animaux à l'Homme : en effet, il existe à l'heure actuelle une multitude de modèles animaux (principalement murins) de la MA. Cependant, aucun d'entre eux ne parvient à reproduire toutes les caractéristiques de la pathologie. De plus, la difficulté de transposition entre les recherches menées chez l'animal et celles menées chez l'Homme est également liée au fait que les formes de mémoire les plus affectées au cours du développement de la MA relèvent de la mémoire déclarative, sous tendue par le langage et/ou par un degré de flexibilité cognitive très complexe (par exemple le codage temporel prospectif ou rétrospectif des informations en mémoire épisodique), difficile à modéliser chez l'animal.

Dans ce contexte, le but de cette étude a été dans un premier temps, d'élaborer un modèle animal permettant de rendre compte des effets délétères à long-terme des formes oligomériques des peptides A $\beta$ <sub>0(1-42)</sub> sur les processus cognitifs et moléculaires, et dans un second temps, de comprendre l'implication de l'atteinte précoce du système cholinergique dans les troubles cognitifs de la MA (pour revue : Contestabile, 2011). D'autre part, cette étude a consisté à étudier l'implication des récepteurs nicotiniques dans les processus mnésiques (pour revue : Levin, 2002) et en particulier à élucider le rôle joué par les récepteurs

nicotiniques  $\alpha 7$ -nAChRs dans les déficits mnésiques et moléculaires sous-tendus par les injections intra-dCA1 d'A $\beta$ <sub>0(1-42)</sub>.

Dans la première partie de cette étude (*Cf: chapitre I*), nos résultats montrent que les injections locales d'A $\beta$ <sub>0(1-42)</sub> **dans le dCA1 induisent une perturbation à long-terme de la mémoire de travail** alors même que la présence d'A $\beta$ <sub>0(1-42)</sub> n'est plus détectable par immunohistochimie. De plus, nous montrons que ces déficits de mémoire de travail s'accompagnent d'une absence **d'activation/phosphorylation de ERK1/2 dépendante du test dans l'hippocampe (plus spécifiquement dans le GD) et également dans des structures cérébrales comme la région prélimbique du CPFm et le septum médian. Cependant, cet effet délétère n'est pas observé dans d'autres régions comme le dCA3 l'amygdale et la région infra-limbique du CPF.**

Dans la seconde partie (*Cf: Chapitre II*), nos travaux montrent dans un premier temps que les injections intra-dCA1 d'A $\beta$ <sub>0(1-42)</sub> induisent une **diminution durable de l'expression de la choline acétyltransférase spécifiquement dans le circuit septo-hippocampique**. Par ailleurs, nous montrons que les souris présentant une invalidation du gène codant pour la sous-unité  $\alpha 7$  des récepteurs nicotiniques (**KO $\alpha 7$** ) **n'ont pas de déficits de mémoire de travail consécutivement aux injections intra-dCA1 d'A $\beta$ <sub>0(1-42)</sub>**. De plus, les **traitements pharmacologiques (agoniste partiel ou antagoniste) ciblant les récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs suppriment les déficits de mémoire de travail induits par les injections locales d'A $\beta$ <sub>0(1-42)</sub> dans le dCA1**. Enfin, nos résultats démontrent que chez les souris traitées avec l'agoniste partiel des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs, l'amélioration des performances en mémoire de travail est associée à un rétablissement des niveaux d'activation de ERK1/2 dans les structures préalablement affectées par les A $\beta$ <sub>0(1-42)</sub>.

Dans leur ensemble, nos résultats viennent renforcer les données de la littérature montrant que les peptides A $\beta$ <sub>0(1-42)</sub> induisent des déficits mnésiques et moléculaires *via* leurs interactions avec les récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs. Enfin, nos résultats laissent entrevoir de nouvelles perspectives thérapeutiques qui pourraient compléter, voire se révéler plus efficaces que les traitements actuels, basés sur l'utilisation de composés favorisant la transmission cholinergique et de composés agonistes des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs.

## **I. Les injections d'A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> induisent une perturbation sélective de la mémoire de travail associée à une altération de l'activation de ERK1/2**

Nos premiers résultats montrent que la présence d'A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> au niveau du CA1 de l'HPCd perturbe la mémoire de travail (test d'alternance séquentielle spontanée et appariement de place différé) tout en préservant la mémoire spatiale (test d'alternance différée). De plus, les déficits de mémoire de travail sont associés à une perturbation de l'activation de ERK1/2 dans l'HPC et dans d'autres structures qui sont également recrutées lors la réalisation de cette tâche mnésique.

### **1. Perturbation de la mémoire de travail consécutivement aux injections intra-dCA1 d'A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>**

La majorité des données cliniques révèle une atteinte très précoce de la mémoire de travail et de la mémoire épisodique au cours du développement de la MA (Morris et Baddeley, 1988 ; Backman et al., 2005), alors que les autres formes de mémoire semblent impactées plus tardivement. De plus, bien que les individus présentent en premier lieu des troubles de la mémoire épisodique, la perturbation de la mémoire de travail apparaît comme un facteur prédictif du passage du stade MCI vers le stade MA (Albert, 2011 ; Weintraub et al., 2012).

De nombreuses études lésionnelles et pharmacologiques ont montré la nécessité de l'intégrité de l'HPC, et du CPF dans la mémoire de travail (Maruki et al., 2001 ; Izaki et al., 2008) et la mémoire épisodique (DeVito et Eichenbaum, 2010). Les déficits de mémoire étant la caractéristique majeure de la MA, de nombreuses études ont tenté d'élaborer des modèles animaux afin de mettre en lumière les substrats neurobiologiques sous-tendant ces perturbations mnésiques. L'apparition des modèles murins transgéniques a permis de grandes avancées dans la compréhension des mécanismes liés au développement de la maladie (Webster et al., 2014). Cependant, il est important de tenir compte de la diversité des modèles utilisés ainsi que la diversité des tâches mnésiques étudiées afin de mieux comprendre le rôle joué par les différents biomarqueurs impliqués dans l'évolution de la MA.

La cascade amyloïde étant l'une des hypothèses majeures de la MA (Hardy et Selkoe, 2002), de nombreuses études se sont intéressées aux effets d'injections intracérébrales de peptides amyloïdes sur les fonctions mnésiques (Chambon et al., 2011). Cependant, ces études ont fait apparaître des résultats contradictoires provenant essentiellement de la nature des

peptides amyloïdes, de la structure cérébrale dans laquelle ils ont été injectés ainsi que de la nature de la tâche considérée et de la difficulté à la résoudre. De manière surprenante, au vu de l'implication importante de l'HPC dans les processus mnésiques et de son atteinte précoce et majeure dans la MA, peu d'études ont évalué les effets d'injections locales d'A $\beta$  dans l'HPC. La majorité des études a surtout évalué l'impact d'injections de peptides amyloïdes dans les ventricules cérébraux de rongeurs. Il a été démontré que l'injection intra-hippocampique de formes agrégées d'A $\beta$ <sub>O(1-42)</sub> induit chez la souris une perturbation à long-terme de la mémoire de travail spatiale (Winkler et al., 1994 ; Hruska et al., 2007) et de la mémoire non-spatiale à court-terme (Christensen et al., 2008). Cependant, d'autres études plus récentes suggèrent que les formes oligomériques d'A $\beta$ , plutôt que les formes agrégées, seraient responsables des effets neurotoxiques du peptide (Haas et Selkoe, 2007 ; Viola et Klein, 2015). En accord avec ces études, nous montrons que les injections intra-dCA1 d'A $\beta$ <sub>O(1-42)</sub> induisent une perturbation sélective de la mémoire de travail (évaluée dans deux tests différents) alors que la mémoire spatiale reste préservée, ce qui au regard du rôle joué par l'HPC dans la mémoire spatiale (Morris et al., 1982 ; Martin et Clarke, 2007) paraît surprenant. Cependant, lors des épreuves d'alternance spontanée et d'appariement différé de place, nous montrons que les déficits mnésiques interviennent pour des IIE élevés qui nécessitent un recrutement plus important de la fonction hippocampique au profit du CPF (Lalonde, 2002). Ces observations suggèrent que les déficits mnésiques relèveraient dans un premier temps d'une perturbation du dialogue entre l'HPC et le CPF plutôt que de l'atteinte structurale de l'HPC. Nos résultats apportent aussi de nouvelles informations quant à l'impact à long-terme des A $\beta$ <sub>O(1-42)</sub> sur les processus mnésiques, qui rappellent fortement les observations cliniques montrant une atteinte sélective et précoce de la mémoire de travail et une atteinte plus tardive de la mémoire spatiale (Twamley et al., 2006 ; Bondi et al., 2008).

## **2. Les déficits de mémoire de travail induits par les A $\beta$ <sub>O(1-42)</sub> s'accompagnent d'une absence d'activation de ERK1/2 dans des structures cérébrales spécifiques (gyrus denté, cortex prélimbique et septum médian)**

De nombreuses études ont démontré l'implication de la voie de signalisation MAPK/ERK dans les processus de mémoire à long-terme dépendants de l'HPC (Sweatt, 2004 ; Hoefer et al., 2008 ; Trifilieff et al., 2006). Il a également été montré que l'activation de ERK1/2 pouvait être induite lors de tâches mnésiques mettant en jeu la mémoire à court-

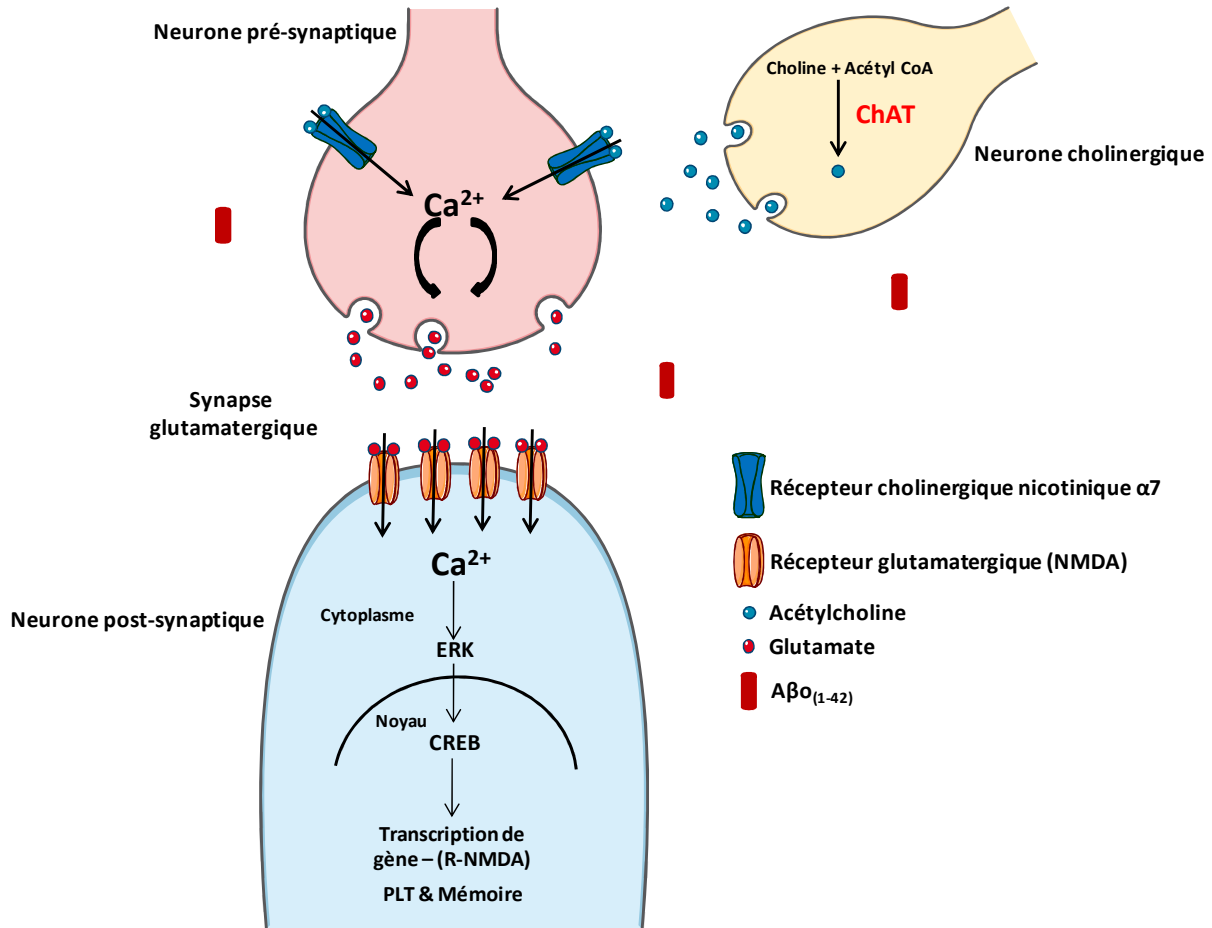
terme (Muller et al., 2006 ; Giovannini et al., 2015) ou la mémoire de travail spatiale (Fijal et al., 2015).

D'un point de vue physiologique, la transmission glutamatergique hippocampique est nécessaire à la réalisation de tâches de mémoire de travail (Driesen et al., 2013 ; Lee et Kesner, 2002 ; Steele et Morris, 1999). Elle se caractérise par la libération de glutamate dans la fente synaptique qui va, via son action sur les récepteurs glutamatergiques (notamment NMDA), induire un influx calcique post-synaptique conduisant à l'activation de différentes cascades de kinases (dont ERK/MAPK), permettant ainsi, au travers de l'activation du facteur de transcription CREB dans le noyau, la transcription de gènes cibles impliqués dans la plasticité synaptique et la mémoire à long-terme. Au niveau de l'HPC, la transmission glutamatergique est modulée par les afférences cholinergiques provenant principalement du septum médian. Ce rôle modulateur de l'acétylcholine s'effectue *via* les récepteurs nicotiques présents en grande quantité au niveau pré-synaptique des neurones glutamatergiques (notamment le sous-type  $\alpha 7$ ) et permet d'induire des libérations contrôlées discrètes et précises de glutamate nécessaires à la réalisation des tâches mnésiques (Fig. 39).

Au vue de l'implication de la voie de signalisation MAPK/ERK dans les processus mnésiques, de nombreuses études se sont intéressées à la régulation de cette voie dans le cadre de la MA. La nature des A $\beta$  utilisés ainsi que leur concentration et leur durée d'application sont des facteurs déterminants dans les effets qu'ils exercent sur la régulation de la voie MAPK/ERK. Ainsi, en se focalisant sur les formes oligomériques d'A $\beta_{(1-42)}$ , l'application de faibles doses de manière aiguë favorise la phosphorylation de ERK sur des cultures de neurones hippocampiques alors que l'application de doses plus élevées induit une hyperphosphorylation de ERK1/2 qui retrouve cependant un niveau d'activation basal lorsque cette application est prolongée (Dineley et al., 2001 ; Bell et al., 2004 ; Zhang et al., 2015 ; Young et al., 2009). Chez des souris transgéniques surexprimant l'APP, il a été démontré une hyperphosphorylation de ERK aux âges de 4 et 13 mois qui revient à un état d'activation inférieur à l'âge de 20 mois (Dineley et al., 2001) ce qui a également été retrouvé chez des patients atteints de MA. Ces observations suggèrent qu'en présence d'une concentration élevée de peptide A $\beta_{(1-42)}$ , une hyperphosphorylation basale de ERK1/2 peut être induite, pouvant résulter d'une activation résiduelle permanente des neurones glutamatergiques post-synaptiques laquelle induirait un phénomène d'excitotoxicité. L'effondrement des niveaux d'activation de ERK1/2 dans les stades avancés de la MA proviendrait d'un dérèglement de l'homéostasie synaptique, qui ne pourrait plus être compensée par les différents systèmes permettant sa régulation. Ces observations sont à rapprocher du fait qu'un antagoniste



glutamatergique tel que la mémantine peut améliorer partiellement les déficits mnésiques dans les stades précoces de la maladie (Reisberg et al., 2003 ; Matsunaga et al., 2015).



**Fig. 39 : Représentation du fonctionnement physiologique de la synapse glutamatergique dans l'HPC.** Les neurones cholinergiques du septum médian projettent vers le neurone glutamatergique pré-synaptique et lors d'une tâche mnésique impliquant l'HPC libère de l'ACh préalablement synthétisée grâce à l'action de la ChAT. Cette libération contrôlée d'ACh va permettre *via* son action sur les récepteurs nicotinique l'entrée de  $\text{Ca}^{2+}$  dans le neurone glutamatergique pré-synaptique qui va induire la libération contrôlée de glutamate dans la fente synaptique. Le glutamate au travers de sa fixation sur les récepteurs NMDA notamment, va permettre l'entrée de  $\text{Ca}^{2+}$  dans le neurone post-synaptique et induire l'activation de la voie de signalisation régulée par ERK-CREB, entraînant dans le compartiment nucléaire la transcription de gènes cibles nécessaire à la formation de la PLT et de la mémoire.

De façon générale, on retrouve dans différents modèles transgéniques d'Alzheimer (Echeverria et al., 2004), une augmentation de la forme active de ERK qui se maintient pendant plusieurs mois, suivie d'une diminution, mais l'impact de ces variations basales sur la signalisation reste inconnu. Il est important de mentionner que l'on retrouve cette évolution

« biphasique » stade-dépendante de l'expression basale de ERK dans les cerveaux de patients atteints de la MA (Webster et al., 2006).

Nos résultats montrent que (1) les  $A\beta_{(1-42)}$  injectés localement dans le dCA1, bloquent l'activation de ERK1/2 spécifiquement dans le GD, et également dans le PL et le SM, (2) la perturbation de l'activation de ERK1/2 est corrélée avec l'altération de la mémoire de travail évaluée par le test d'alternance séquentielle spontanée. Ces observations sont en accord avec de nombreuses études montrant que les oligomères d' $A\beta_{(1-42)}$  diminuent fortement la phosphorylation de ERK1/2 ainsi que de son substrat CREB et perturbent par conséquent la transcription de gènes-cibles codant par exemple pour la sous-unité du récepteur NMDA (Ma et al., 2007 ; Bell et al., 2004 ; Xie et al., 2004 ; Zhu et al., 2002). De façon cohérente, l'immuno-neutralisation (par des anticorps anti- $A\beta$ ) bloque l'effet inhibiteur des  $A\beta$  sur l'activation de ERK (Ma et al., 2007). Dans notre cas, les niveaux d'activation de ERK1/2 sont évalués 7 jours après la dernière injection à un moment où nous ne détectons plus la présence d' $A\beta_{(1-42)}$ , ce qui laisse supposer, en accord avec les données de la littérature, que l'hyperphosphorylation de ERK1/2 résulterait d'un effet transitoire des  $A\beta_{(1-42)}$ , et pourrait corrélérer avec la perte de l'effet neuromodulateur de l'ACh augmentant ainsi le niveau basal de ERK phosphorylé, rendant sa phosphorylation consécutive à l'activation de la voie de signalisation impossible. Enfin, ERK1/2 est un point de convergence entre différentes kinases telles que la PKA et la PKC (Adams et Sweatt, 2002 ; Sweatt, 2004) ce qui engendre une plus grande complexité quant à la compréhension des mécanismes sous-tendant la régulation de ERK1/2 par les peptides amyloïdes. Cependant, à ce jour, un grand nombre de données expérimentales confirment l'idée que les peptides amyloïdes perturbent l'activité des kinases essentielles au fonctionnement de la mémoire (Zhu et al., 2002).

## **II. Les $A\beta_{(1-42)}$ dans l'HPCd perturbent le fonctionnement du système cholinergique et induisent des déficits mnésiques en interagissant avec les récepteurs $\alpha 7$ -nAChRs**

Les récepteurs nicotiniques sont exprimés dans les zones de projection des voies cholinergiques aux niveaux pré et post-synaptique et participent de fait à la libération d'ACh, ainsi qu'à la génération d'un potentiel d'action post-synaptique induit par l'entrée de  $Ca^{2+}$  dans le compartiment cellulaire. Le rôle joué par ces récepteurs dans la MA a largement été étudié, compte tenu de l'existence d'une diminution, du tonus cholinergique et de l'expression cérébrale des  $\alpha 7$ -nAChRs (Burghaus et al., 2000 ; Guan et al., 2000) au cours de l'évolution de la maladie, et d'autre part, de la possibilité de ses récepteurs à interagir avec les peptides  $A\beta$ . Ces interactions ont largement été caractérisées en ce qui concerne les récepteurs  $\alpha 7$ -

nAChRs. En effet, comme nous l'avons vu au cours de ce manuscrit, il a été démontré que les peptides  $A\beta_{(1-42)}$  peuvent se lier avec le récepteur  $\alpha 7$ -nAChRs avec une très forte affinité (Wang et al., 2000 a,b) et que l'induction des effets délétères, tant mnésiques que moléculaires, induits par les peptides  $A\beta_{(1-42)}$  semble se développer au travers d'un mécanisme dépendant des  $\alpha 7$ -nAChRs (Dineley et al., 2001 ; Parri et al., 2011). En effet, les récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs présentent une forte expression au niveau de l'HPC et du CPF (Gotti et al., 2007) et sont impliqués du fait de leur forte perméabilité calcique dans la modulation d'événements cellulaires dépendants du  $Ca^{2+}$  tels que la libération de neurotransmetteur (McGehee et al., 1995) et la signalisation post-synaptique (Chang et Berg, 1999).

Dans ce contexte, nous avons évalué l'impact d'injections d' $A\beta_{(1-42)}$  sur des souris KO $\alpha 7$  âgées de 10 mois. Nous montrons que ces souris ne présentent pas de déficits de mémoire de travail consécutivement aux injections d' $A\beta_{(1-42)}$  dans le dCA1. Nos données sont cohérentes avec les résultats obtenus chez une lignée de souris transgéniques exprimant à la fois deux mutations (Swedish et Indiana) du gène APP et une délétion du gène codant pour la sous-unité  $\alpha 7$  des récepteurs nicotiniques (souris APP- $\alpha 7$ KO). Les souris APP- $\alpha 7$ KO ne présentent pas de déficits de mémoire spatiale ni de déficit de PLT aux âges de 13 et 16 mois en comparaison avec leurs homologues APP, suggérant que l'absence de récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs permet de prévenir les déficits cognitifs liés à la pathologie amyloïde (Dziewczapolski et al., 2009). Des travaux similaires ont été réalisés avec une lignée de souris transgéniques présentant une seule mutation (Swedish) du gène APP et une délétion du gène codant pour la sous-unité  $\alpha 7$  des récepteurs nicotiniques (Hernandez et al., 2010). De manière intéressante, cette étude montre que les souris APP- $\alpha 7$ KO présentent une plus forte perturbation mnésique à l'âge de 5 mois dans une tâche de conditionnement contextuel à la peur et de reconnaissance d'objet en comparaison avec leurs homologues APP, suggérant que l'interaction  $A\beta/\alpha 7$  permettrait d'activer des voies de signalisations impliquées dans la neuroprotection et que ces interactions engageant les  $A\beta$  permettraient de prévenir leur agrégation. L'implication des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs semble donc varier en fonction de l'âge des souris testées et probablement en fonction de la concentration en  $A\beta$ . De plus, dans ces deux modèles deux mutations différentes sont utilisées ce qui peut contribuer à un développement de la pathologie selon des cascades de signalisation différentes, rendant difficile la comparaison de ces résultats.

Du fait de ces observations, il semble difficile avec ces modèles animaux de conclure quant au rôle des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs dans les déficits cognitifs induits par le s $A\beta_{(1-42)}$ .

De nombreuses questions subsistent quant à la nature de l'action agoniste ou antagoniste, des peptides  $A\beta_{(1-42)}$  sur ces récepteurs (Liu et al., 2009 ; Pettit et al. 2001). En effet, la nature des interactions  $A\beta/\alpha 7$ -nAChRs est complexe et dépend de nombreuses composantes telles que la localisation cérébrale des récepteurs, le type de neurones utilisés dans les modèles *in vitro*, ainsi que de la nature du peptide étudié, de sa concentration, de sa durée d'exposition et de son état d'agrégation, et l'âge des animaux testés. (Dineley et al., 2015 ; Lombardo et Maskos, 2015),

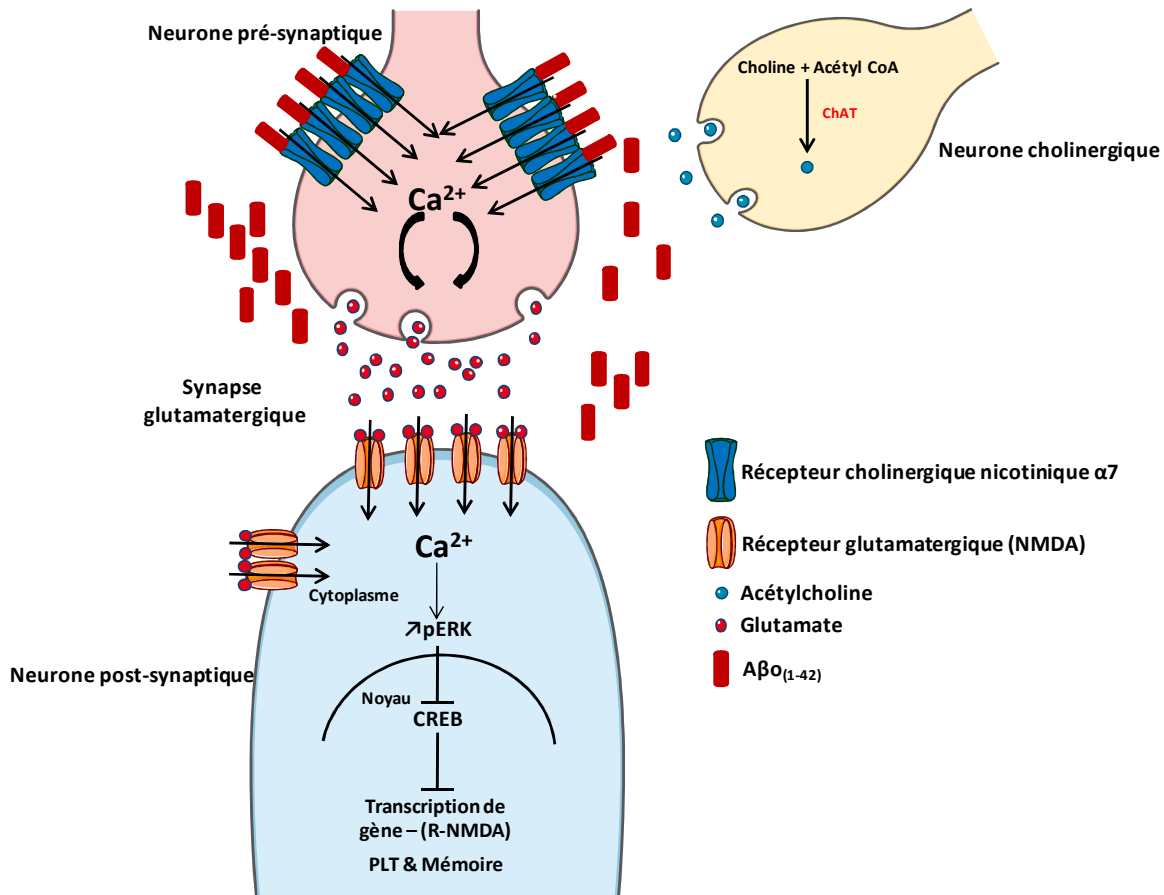
Aussi, afin de mieux comprendre l'implication des  $\alpha 7$ -nAChRs dans les effets délétères des injections répétées d' $A\beta_{(1-42)}$ , nous avons entrepris différents types de traitements pharmacologiques ciblant spécifiquement les récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs. Nos résultats montrent que les traitements chroniques et systémiques par un agoniste partiel et un antagoniste des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs permettent de prévenir le déficit de la mémoire de travail des animaux ayant reçu des injections intra-dCA1 d' $A\beta_{(1-42)}$ , alors que le traitement par un agoniste complet n'a aucun effet significatif .

Comme nous l'avons vu dans le chapitre I, les injections intra-dCA1 d' $A\beta_{(1-42)}$  induisent des perturbations de la mémoire de travail. Nous montrons que le traitement chronique et systémique par un agoniste partiel des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs issu de la recherche SERVIER (S 24795) (Lopez-Hernandez et al., 2007) permet d'améliorer de manière dose-dépendante les performances des animaux dans une épreuve de mémoire de travail et de restaurer les niveaux d'activation de ERK1/2 dans les structures (GD, PL et SM) préalablement affectées par les  $A\beta_{(1-42)}$ . D'un point de vue physiologique, le S 24795 permet d'augmenter la LTP dans l'HPC de souris (Lagostena et al., 2008), et de supprimer les déficits de mémoire déclarative et de mémoire de travail liés au vieillissement (Beracochea et al., 2008 ; Marighetto et al., 2008). Nos résultats, issus d'un modèle *in vivo* montrant l'efficacité d'un tel traitement dans la prévention des déficits de mémoire induits par les  $A\beta_{(1-42)}$ , corroborent les études menées *in vitro* montrant l'effet neuroprotecteur du S 24795 vis-à-vis d'une exposition prolongée aux  $A\beta_{(1-42)}$  exogènes  $A\beta_{(1-42)}$  d'un point de vue cellulaire et électrophysiologique, en diminuant leurs effets délétères sur la plasticité synaptique (Wang et al., 2009a) et en rétablissant la fonction des récepteurs glutamatergiques NMDA et  $\alpha 7$ -nAChRs (Wang et al., 2009b). Par ailleurs, nous montrons également que le traitement chronique et systémique par l'antagoniste compétitif des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs, la MLA (Yu et Role, 1998) permet de réduire significativement les déficits de mémoire de travail induits par les injections intra-dCA1 d' $A\beta_{(1-42)}$ , alors que le traitement par l'agoniste complet de ces récepteurs, le PNU282987 n'induit aucun bénéfice mnésique. Ces résultats semblent à priori

en contradiction avec les données de la littérature qui montrent que l'activation des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs *in vitro* et *in vivo* présente un effet bénéfique sur la mémoire (pour revue : Wallace et Porter, 2011) mais également avec les études cliniques ayant évalué le potentiel thérapeutique de composés agonistes de ces récepteurs (Russo et al., 2014), alors que l'utilisation d'antagonistes des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs induit une perturbation de la mémoire de travail notamment dans une épreuve d'alternance spontanée en labyrinthe en T (Andriambeloson et al., 2014).

En relation avec le rôle neuromodulateur de l'ACh au niveau des synapses glutamatergiques, nous émettons l'hypothèse que les peptides  $A\beta_{(1-42)}$  en interagissant avec les récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs entraînent d'une part l'augmentation de leur expression et d'autre part contribuent à une perturbation de l'homéostasie synaptique glutamatergique (Fig. 40).

Les peptides  $A\beta$  modulent directement la fonction des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs (Dineley et al., 2002 ; Lamb et al., 2005, Pettit et al., 2001). Néanmoins, l'exposition aigue ou chronique à de faibles doses ou fortes doses d' $A\beta_{(1-42)}$  semble avoir des conséquences différentes en ce qui concerne la fonction des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs. En effet, l'exposition aigue à de faibles doses (de l'ordre du fM au pM) d' $A\beta_{(1-42)}$  permet d'améliorer la PLT sur des tranches d'HPC, ainsi que les performances mnésiques dans une épreuve de mémoire spatiale de référence en piscine de Morris lorsque les  $A\beta_{(1-42)}$  sont injectés 10 min avant le test, *via* un mécanisme dépendant des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs (Puzzo et al., 2008), suggérant ainsi que les  $A\beta_{(1-42)}$  agissent comme des agonistes des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs. En revanche, l'exposition aigue à forte doses d' $A\beta$  (nM à  $\mu$ M) sur des cultures d'HPC entraîne l'inhibition directe de la fonction des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs et de la plasticité synaptique hippocampique (Liu et al., 2001 ; Pettit et al., 2001 ; Lamb, 2005 ; Gu et Yakel, 2011). Il a été suggéré qu'à fortes doses, les peptides  $A\beta_{(1-42)}$  présentaient un profil antagoniste vis-à-vis des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs, ce qui a conduit au développement de stratégies thérapeutiques basées sur l'administration de composés agonistes de ces récepteurs (Valles et al., 2014). Cependant, l'inhibition de ces récepteurs par les  $A\beta_{(1-42)}$  ne proviendrait pas d'un effet pharmacologique antagoniste direct des  $A\beta_{(1-42)}$  mais s'effectuerait possiblement au travers d'un mécanisme de désensibilisation rendant le récepteur inactif de façon durable, en accord avec le modèle allostérique (Dineley et al., 2002 ; Parri et al., 2011).



**Fig. 40 : Représentation hypothétique du fonctionnement de la synapse glutamatergique dans l'HPC dans les phases précoces de la MA.** L'exposition prolongée aux peptides  $A\beta_{(1-42)}$  entraîne une diminution de l'expression de la ChAT traduisant une diminution de la synthèse d'ACh. Les peptides  $A\beta_{(1-42)}$  en se fixant aux récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs induisent *via* un mécanisme de désensibilisation l'augmentation de leur expression et de leur sensibilité. Nous suggérons l'hypothèse que les  $A\beta_{(1-42)}$  à la manière des « curares dépolarisants » entraînent un changement de conformation durable du récepteur dont le canal reste ouvert. Ce phénomène permet par conséquent le passage continu du  $Ca^{2+}$  dans le neurone glutamatergique pré-synaptique entraînant une libération continue et massive de glutamate dans la fente synaptique qui va pouvoir exercer ses effets au travers des récepteurs NMDA synaptiques et péri-synaptiques. Cette activation constante des neurones glutamatergiques post-synaptique consécutive à la perte du rôle neuromodulateur de système cholinergique pourrait expliquer l'état d'hyperphosphorylation basale de ERK (diminution du ratio signal/bruit de fond) et en conséquence, les déficits des performances mnésiques.

Comme nous venons de le voir, l'exposition aigue et à fortes doses d' $A\beta_{(1-42)}$  induit une inhibition fonctionnelle des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs. Cependant, la concentration ainsi que l'exposition des neurones aux  $A\beta_{(1-42)}$  augmentent au cours de l'évolution de la MA du fait de l'accroissement progressif de la charge amyloïde. Or, il a été démontré *in vitro* sur des cultures d'astrocytes provenant de l'HPC et du cortex de rat (Xiu et al., 2005 ; Yu et al., 2005) ainsi que sur des neurones cholinergiques (Liu et al., 2015) que l'exposition chronique d' $A\beta_{(1-42)}$  induit une augmentation de l'expression des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs, ce qui a également été confirmé chez des patients atteints de MA et dans certains modèles animaux de la pathologie

(Hellstrom-Lindahl et al., 2004 ; Dineley et al., 2002 ; Ikonovic et al., 2009 ; Counts et al., 2007). De manière intéressante, sur des cultures de neurones d'HPC, les A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> induisent une augmentation de l'expression des récepteurs  $\alpha$ 7-nAChRs spécifiquement au niveau des neurones pyramidaux glutamatergiques, et non des interneurons GABAergiques (Liu et al., 2013).

Ces modulations différentes des récepteurs  $\alpha$ 7-nAChRs lors d'expositions aiguës ou chroniques d'A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> peuvent être interprétées par le fait que l'exposition chronique induit une désensibilisation des récepteurs  $\alpha$ 7-nAChRs entraînant l'augmentation de leur expression (Molinari et al., 1998), et un changement de leur sensibilité en (Buisson et Bertrand, 2002 ; Giniatullin et al., 2005). Dans ce cas, les récepteurs  $\alpha$ 7-nAChRs nouvellement synthétisés se retrouvent dans un état hypersensible présentant une affinité fortement accrue pour leur ligand (dans ce cas les A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>). Ainsi, nous suggérons que les peptides A $\beta$ <sub>(1-42)</sub> en se fixant aux récepteurs  $\alpha$ 7-nAChRs pourraient à la manière des curares dépolarisants bloquer les récepteurs en position canal ouvert et ainsi participer à la dérégulation de l'homéostasie synaptique glutamatergique, en induisant un influx calcique continue au niveau pré-synaptique lequel augmenterait la libération de glutamate et empêcherait ainsi sa libération contrôlée et discrète nécessaire à la PLT et aux processus mnésiques et participerait au phénomène d'excitotoxicité.

**Cette hypothèse pourrait expliquer le bénéfice d'un traitement par un antagoniste complet et par un agoniste partiel qui dans ce cas auraient une fonction antagoniste (Calvey et Williams, 2009) permettant de bloquer l'influx continu de Ca<sup>2+</sup> diminuant ainsi le « bruit de fond » et permettant à l'ACh de retrouver son rôle neuromodulateur.** Cette hypothèse est également cohérente avec le fait que le traitement par un agoniste complet ne présente aucune efficacité, puisqu'il potentialiserait la stimulation constante de la synapse glutamatergique.

A la vue de ces différents résultats, il apparaît que le traitement par un antagoniste ou un agoniste partiel pourrait être une stratégie thérapeutique envisageable dans le traitement des effets délétères des peptides amyloïdes. Cependant, si de tels traitements semblent efficaces dans notre modèle animal, la fenêtre temporelle dans laquelle ils doivent être appliqués est un élément crucial d'un point de vue thérapeutique. Enfin, bien que notre étude apporte de nouvelles perspectives quant aux conséquences neurofonctionnelles de l'interaction A $\beta$ <sub>(1-42)</sub>/ $\alpha$ 7-nAChRs, il faut garder en mémoire que les peptides amyloïdes peuvent interagir avec de nombreuses cibles cellulaires induisant une multitude de réponses

différentes au sein des différentes structures cérébrales, pouvant conduire à un grand nombre de phénomènes compensatoires.

### Conclusion et perspectives

Nos travaux mettent en évidence que des injections répétées intra-dCA1 de formes oligomériques d'A $\beta_{(1-42)}$  chez des souris âgées de 10 mois induisent une perturbation spécifique et sélective de la mémoire de travail associée à une dérégulation de l'activation de ERK1/2 dans des régions recrutées pour la réalisation de cette tâche (GD, PL et SM). De plus, nous montrons l'implication essentielle des récepteurs  $\alpha 7$ nAChRs dans les déficits mnésiques sous-tendus par les peptides amyloïdes et la possibilité de prévenir ces déficits mnésiques et moléculaires par l'utilisation de traitements pharmacologiques agonistes partiel et antagoniste de ces récepteurs.

Afin de compléter ces travaux, plusieurs expériences pourraient être mises en œuvre. Tout d'abord, nous nous sommes focalisés sur l'étude des effets mnésiques d'injections intra-dCA1 d'A $\beta_{(1-42)}$  7 jours après la dernière injection. Il serait intéressant de confirmer les déficits de mémoire de travail sur des délais plus longs (plusieurs semaines voire plusieurs mois). De plus, nous n'observons pas de déficits de mémoire spatiale, or dans la MA, cette forme de mémoire présente une atteinte plus tardive que la mémoire de travail (Tarawneh et Holtzman, 2013). Nous pouvons donc supposer qu'en augmentant le délai entre les injections d'A $\beta_{(1-42)}$  et le test de mémoire spatiale, nous pourrions obtenir un phénotype comportemental différent de celui observé à 7 jours. Par ailleurs, l'hyperphosphorylation de tau étant un événement postérieur à l'apparition de dépôts amyloïdes, il pourrait être intéressant d'évaluer dans notre modèle si les injections intra-dCA1 d'A $\beta_{(1-42)}$  sont capables d'induire l'hyperphosphorylation de tau et si tel était le cas, dans quelles structures et par quels mécanismes. En effet, au vue de la controverse sur le potentiel de ERK1/2 à initier la phosphorylation de tau, nous pourrions envisager d'injecter au niveau du dCA1 un inhibiteur de MEK (qui est la molécule activant ERK) afin d'évaluer son impact sur la phosphorylation de tau.

L'hypothèse émise permettant d'expliquer les mécanismes par lesquels les A $\beta_{(1-42)}$  induisent leurs délétères en interagissant avec les récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs pourrait être étayée par la réalisation de plusieurs expériences. En premier lieu, dans la mesure où nous supposons que l'interaction chronique A $\beta_{(1-42)}$ / $\alpha 7$ -nAChRs induit une augmentation de l'expression des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs, il serait intéressant de le vérifier avec une analyse par Western Blot. Dans un second temps, le dosage des neurotransmetteurs ACh et glutamate pourrait également



être envisagé. En effet, en utilisant la technique de microdialyse intracérébrale, nous pourrions récupérer des dialysats au niveau hippocampique et ainsi procéder aux dosages d'ACh et de glutamate. Ainsi, nous devrions observer une diminution du taux d'ACh en relation avec la diminution de la concentration de la ChAT que nous avons observée, et une augmentation du taux de glutamate qui corroborerait notre hypothèse suggérant l'apparition d'une excitotoxicité calcique conduisant à une surproduction glutamatergique au niveau de l'HPC. Par ailleurs, afin de confirmer une perturbation de l'homéostasie synaptique, nous pourrions effectuer des marquages immunohistochimiques avec des marqueurs de plasticité synaptique, tels que la synaptogamine ou synaptophysine, qui pourraient nous renseigner sur la détérioration synaptique. Enfin, nous montrons que le traitement par MLA et le S24795 permet de prévenir les déficits en mémoire de travail sur des souris âgées de 10 mois. Cependant, il faudrait confirmer ces résultats sur des animaux plus âgés présentant un état cognitif et mnésique déjà altéré par le vieillissement, afin de voir si les mêmes traitements pourraient atténuer ces déficits de la même façon.

Dans leur ensemble, nos données permettent de proposer de nouvelles perspectives thérapeutiques pour la MA. Par exemple, nous suggérons que l'utilisation d'un agoniste partiel ou d'un antagoniste des récepteurs  $\alpha 7$ -nAChRs utilisé à un stade précis de la maladie pourrait contribuer à prévenir les effets délétères induits par les peptides  $A\beta_{(1-42)}$ . Cependant, bien que notre modèle d'étude *in vivo* soit parfaitement adapté pour étudier spécifiquement l'impact des  $A\beta_{(1-42)}$  dans l'HPCd sur les processus mnésiques, il présente l'inconvénient de ne prendre en compte qu'une partie de l'étiopathologie de la MA. Ce modèle pourrait néanmoins se montrer utile dans l'évaluation préclinique de certaines stratégies thérapeutiques, ciblant aussi bien les récepteurs  $\alpha 7$  que d'autres types de nAChRs avec lesquels les peptides amyloïdes interagissent, et dont l'intérêt thérapeutique potentiel reste entièrement à déterminer.

# **Bibliographie**



## A-B

- Adams BW, Moghaddam B (2000) Tactile stimulation activates dopamine release in the lateral septum. *Brain Res* 858:177-180.
- Adams JP, Sweatt JD (2002) Molecular psychology: roles for the ERK MAP kinase cascade in memory. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 42:135-163.
- Albert MS (2011) Changes in cognition. *Neurobiol Aging* 32 Suppl 1:S58-63.
- Alkondon M, Pereira EF, Eisenberg HM, Albuquerque EX (1999) Choline and selective antagonists identify two subtypes of nicotinic acetylcholine receptors that modulate GABA release from CA1 interneurons in rat hippocampal slices. *J Neurosci* 19:2693-2705.
- Alkondon M, Braga MF, Pereira EF, Maelicke A, Albuquerque EX (2000)  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptors and modulation of gabaergic synaptic transmission in the hippocampus. *Eur J Pharmacol* 393:59-67.
- Alzheimer A, Stelzmann RA, Schnitzlein HN, Murtagh FR (1995) An English translation of Alzheimer's 1907 paper, "Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde". *Clin Anat* 8:429-431.
- Andreasen N, Blennow K (2005) CSF biomarkers for mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease. *Clin Neurol Neurosurg* 107:165-173.
- Andreasen N, Zetterberg H (2008) Amyloid-related biomarkers for Alzheimer's disease. *Curr Med Chem* 15:766-771.
- Andriambeloson E, Huyard B, Poiraud E, Wagner S (2014) Methyllaconitine- and scopolamine-induced cognitive dysfunction: differential reversal effect by cognition-enhancing drugs. *Pharmacol Res Perspect* 2:e00048.
- Arendash GW, Lewis J, Leighty RE, McGowan E, Cracchiolo JR, Hutton M, Garcia MF (2004) Multi-metric behavioral comparison of APP<sup>sw</sup> and P301L models for Alzheimer's disease: linkage of poorer cognitive performance to tau pathology in forebrain. *Brain Res* 1012:29-41.
- Auerbach JM, Segal M (1994) A novel cholinergic induction of long-term potentiation in rat hippocampus. *J Neurophysiol* 72:2034-2040.
- Auld DS, Kar S, Quirion R (1998) Beta-amyloid peptides as direct cholinergic neuromodulators: a missing link? *Trends Neurosci* 21:43-49.
- Backman L, Jones S, Berger AK, Laukka EJ, Small BJ (2005) Cognitive impairment in preclinical Alzheimer's disease: a meta-analysis. *Neuropsychology* 19:520-531.
- Baddeley AD, Baddeley HA, Bucks RS, Wilcock GK (2001) Attentional control in Alzheimer's disease. *Brain* 124:1492-1508.
- Baddeley A, Logie R, Bressi S, Della Sala S, Spinnler H (1986) Dementia and working memory. *Q J Exp Psychol A* 38:603-618.
- Balducci C, Forloni G (2011) APP transgenic mice: their use and limitations. *Neuromolecular Med* 13:117-137.
- Balducci C, Forloni G (2014) In vivo application of beta amyloid oligomers: a simple tool to evaluate mechanisms of action and new therapeutic approaches. *Curr Pharm Des* 20:2491-2505.
- Bales KR, Verina T, Dodel RC, Du Y, Altstiel L, Bender M, Hyslop P, Johnstone EM, Little SP, Cummins DJ, Piccardo P, Ghetti B, Paul SM (1997) Lack of apolipoprotein E dramatically reduces amyloid beta-peptide deposition. *Nat Genet* 17:263-264.
- Balleine BW, Dickinson A (1998) Goal-directed instrumental action: contingency and incentive learning and their cortical substrates. *Neuropharmacology* 37:407-419.
- Barbas H, Blatt GJ (1995) Topographically specific hippocampal projections target functionally distinct prefrontal areas in the rhesus monkey. *Hippocampus* 5:511-533.

- Barthet G, Georgakopoulos A, Robakis NK (2012) Cellular mechanisms of gamma-secretase substrate selection, processing and toxicity. *Prog Neurobiol* 98:166-175.
- Bartus RT, Johnson HR (1976) Short-term memory in the rhesus monkey: disruption from the anti-cholinergic scopolamine. *Pharmacol Biochem Behav* 5:39-46.
- Bartus RT, Dean RL, Pontecorvo MJ, Flicker C (1985) The cholinergic hypothesis: a historical overview, current perspective, and future directions. *Ann N Y Acad Sci* 444:332-358.
- Bartzokis G, Cummings JL, Sultzer D, Henderson VW, Nuechterlein KH, Mintz J (2003) White matter structural integrity in healthy aging adults and patients with Alzheimer disease: a magnetic resonance imaging study. *Arch Neurol* 60:393-398.
- Bateman RJ et al. (2012) Clinical and biomarker changes in dominantly inherited Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 367:795-804.
- Baxter MG, Bucci DJ, Gorman LK, Wiley RG, Gallagher M (1995) Selective immunotoxic lesions of basal forebrain cholinergic cells: effects on learning and memory in rats. *Behav Neurosci* 109:714-722.
- Baxter MG, Bucci DJ, Sobel TJ, Williams MJ, Gorman LK, Gallagher M (1996) Intact spatial learning following lesions of basal forebrain cholinergic neurons. *Neuroreport* 7:1417-1420.
- Bell KF, Bennett DA, Cuello AC (2007) Paradoxical upregulation of glutamatergic presynaptic boutons during mild cognitive impairment. *J Neurosci* 27:10810-10817.
- Bell KA, O'Riordan KJ, Sweatt JD, Dineley KT (2004) MAPK recruitment by beta-amyloid in organotypic hippocampal slice cultures depends on physical state and exposure time. *J Neurochem* 91:349-361.
- Belleville S, Chertkow H, Gauthier S (2007) Working memory and control of attention in persons with Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neuropsychology* 21:458-469.
- Benilova I, Karran E, De Strooper B (2012) The toxic Aβ oligomer and Alzheimer's disease: an emperor in need of clothes. *Nat Neurosci* 15:349-357.
- Beracochea D, Jaffard R (1985) Memory deficits subsequent to chronic consumption of alcohol in mice: an analysis based on spontaneous alternation behavior. *Behav Brain Res* 15:15-25.
- Beracochea DJ, Jaffard R (1987) Impairment of spontaneous alternation behavior in sequential test procedures following mammillary body lesions in mice: evidence for time-dependent interference-related memory deficits. *Behav Neurosci* 101:187-197.
- Beracochea D, Micheau J, Jaffard R (1992) Memory deficits following chronic alcohol consumption in mice: relationships with hippocampal and cortical cholinergic activities. *Pharmacol Biochem Behav* 42:749-753.
- Beracochea D, Boucard A, Trocme-Thibierge C, Morain P (2008) Improvement of contextual memory by S 24795 in aged mice: comparison with memantine. *Psychopharmacology (Berl)* 196:555-564.
- Beracochea D, Lescaudron L, Tako A, Verna A, Jaffard R (1987) Build-up and release from proactive interference during chronic ethanol consumption in mice: a behavioral and neuroanatomical study. *Behav Brain Res* 25:63-74.
- Berg DK, Conroy WG (2002) Nicotinic α7 receptors: synaptic options and downstream signaling in neurons. *J Neurobiol* 53:512-523.
- Bergmans BA, De Strooper B (2010) gamma-secretases: from cell biology to therapeutic strategies. *Lancet Neurol* 9:215-226.
- Bertram L, Tanzi RE (2008) Thirty years of Alzheimer's disease genetics: the implications of systematic meta-analyses. *Nat Rev Neurosci* 9:768-778.

- Bertram L, Lill CM, Tanzi RE (2010) The genetics of Alzheimer disease: back to the future. *Neuron* 68:270-281.
- Bertrand D, Galzi JL, Devillers-Thiery A, Bertrand S, Changeux JP (1993) Mutations at two distinct sites within the channel domain M2 alter calcium permeability of neuronal  $\alpha 7$  nicotinic receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90:6971-6975.
- Bertrand D, Devillers-Thiery A, Revah F, Galzi JL, Hussy N, Mulle C, Bertrand S, Ballivet M, Changeux JP (1992) Unconventional pharmacology of a neuronal nicotinic receptor mutated in the channel domain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89:1261-1265.
- Bertrand S, Palma E, Corringer PJ, Edelstein SJ, Changeux JP, Bertrand D (1996) Methyllaconitine a competitive inhibitor of the  $\alpha 7$  desensitized open mutant L247T. *Soc Neurosci Abstr* 22:1522.
- Bettens K, Slegers K, Van Broeckhoven C (2013) Genetic insights in Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 12:92-104.
- Bien-Ly N, Gillespie AK, Walker D, Yoon SY, Huang Y (2012) Reducing human apolipoprotein E levels attenuates age-dependent Abeta accumulation in mutant human amyloid precursor protein transgenic mice. *J Neurosci* 32:4803-4811.
- Bigl V, Woolf NJ, Butcher LL (1982) Cholinergic projections from the basal forebrain to frontal, parietal, temporal, occipital, and cingulate cortices: a combined fluorescent tracer and acetylcholinesterase analysis. *Brain Res Bull* 8:727-749.
- Bitan G, Kirkitadze MD, Lomakin A, Vollers SS, Benedek GB, Teplow DB (2003) Amyloid beta -protein (Abeta) assembly: Abeta 40 and Abeta 42 oligomerize through distinct pathways. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:330-335.
- Biton B et al. (2007) SSR180711, a novel selective  $\alpha 7$  nicotinic receptor partial agonist: (1) binding and functional profile. *Neuropsychopharmacology* 32:1-16.
- Bizon JL, Han JS, Hudon C, Gallagher M (2003) Effects of hippocampal cholinergic deafferentation on learning strategy selection in a visible platform version of the water maze. *Hippocampus* 13:676-684.
- Blin O, Audebert C, Pitel S, Kaladjian A, Casse-Perrot C, Zaim M, Micallef J, Tisne-Versailles J, Sokoloff P, Chopin P, Marien M (2009) Effects of dimethylaminoethanol pyroglutamate (DMAE p-Glu) against memory deficits induced by scopolamine: evidence from preclinical and clinical studies. *Psychopharmacology (Berl)* 207:201-212.
- Blitzer RD, Gil O, Landau EM (1990) Cholinergic stimulation enhances long-term potentiation in the CA1 region of rat hippocampus. *Neurosci Lett* 119:207-210.
- Boess FG, De Vry J, Erb C, Flessner T, Hendrix M, Luithle J, Methfessel C, Riedl B, Schnizler K, van der Staay FJ, van Kampen M, Wiese WB, Koenig G (2007) The novel  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor agonist N-[(3R)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-yl]-7-[2-(methoxy)phenyl]-1-benzofuran-2-carboxamide improves working and recognition memory in rodents. *J Pharmacol Exp Ther* 321:716-725.
- Boncrisiano S, Calhoun ME, Kelly PH, Pfeifer M, Bondolfi L, Stalder M, Phinney AL, Abramowski D, Sturchler-Pierrat C, Enz A, Sommer B, Staufenbiel M, Jucker M (2002) Cholinergic changes in the APP23 transgenic mouse model of cerebral amyloidosis. *J Neurosci* 22:3234-3243.
- Bondi MW, Jak AJ, Delano-Wood L, Jacobson MW, Delis DC, Salmon DP (2008) Neuropsychological contributions to the early identification of Alzheimer's disease. *Neuropsychol Rev* 18:73-90.
- Boon WC, van den Buuse M, Wegener N, Martin S, Chua HK, Bush AI, Masters CL, Adlard PA, Li QX (2010) Behavioural phenotype of APPC100.V717F transgenic mice over-

- expressing a mutant A $\beta$ -bearing fragment is associated with reduced NMDA receptor density. *Behav Brain Res* 209:27-35.
- Bourin M, Ripoll N, Dailly E (2003) Nicotinic receptors and Alzheimer's disease. *Curr Med Res Opin* 19:169-177.
- Bowen DM, Smith CB, White P, Davison AN (1976) Neurotransmitter-related enzymes and indices of hypoxia in senile dementia and other abiotrophies. *Brain* 99:459-496.
- Braak H, Braak E (1991) Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* 82:239-259.
- Braak H, Braak E (1997) Frequency of stages of Alzheimer-related lesions in different age categories. *Neurobiol Aging* 18:351-357.
- Braak H, Braak E, Strothjohann M (1994) Abnormally phosphorylated tau protein related to the formation of neurofibrillary tangles and neuropil threads in the cerebral cortex of sheep and goat. *Neurosci Lett* 171:1-4.
- Brion JP, Couck AM, Passareiro E, Flament-Durand J (1985) Neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease: an immunohistochemical study. *J Submicrosc Cytol* 17:89-96.
- Broersen K, Jonckheere W, Rozenski J, Vandersteen A, Pauwels K, Pastore A, Rousseau F, Schymkowitz J (2011) A standardized and biocompatible preparation of aggregate-free amyloid  $\beta$  peptide for biophysical and biological studies of Alzheimer's disease. *Protein Eng Des Sel* 24:743-750.
- Brouillette J, Caillierez R, Zommer N, Alves-Pires C, Benilova I, Blum D, De Strooper B, Buee L (2012) Neurotoxicity and memory deficits induced by soluble low-molecular-weight amyloid- $\beta$ 1-42 oligomers are revealed in vivo by using a novel animal model. *J Neurosci* 32:7852-7861.
- Buccafusco JJ, Jackson WJ, Jonnala RR, Terry AV, Jr. (1999) Differential improvement in memory-related task performance with nicotine by aged male and female rhesus monkeys. *Behav Pharmacol* 10:681-690.
- Buccafusco JJ, Terry AV, Jr., Decker MW, Gopalakrishnan M (2007) Profile of nicotinic acetylcholine receptor agonists ABT-594 and A-582941, with differential subtype selectivity, on delayed matching accuracy by young monkeys. *Biochem Pharmacol* 74:1202-1211.
- Buckingham SD, Jones AK, Brown LA, Sattelle DB (2009) Nicotinic acetylcholine receptor signalling: roles in Alzheimer's disease and amyloid neuroprotection. *Pharmacol Rev* 61:39-61.
- Buckner RL (2004) Memory and executive function in aging and AD: multiple factors that cause decline and reserve factors that compensate. *Neuron* 44:195-208.
- Buisson B, Bertrand D (2002) Nicotine addiction: the possible role of functional upregulation. *Trends Pharmacol Sci* 23:130-136.
- Burgess GC, Braver TS (2010) Neural mechanisms of interference control in working memory: effects of interference expectancy and fluid intelligence. *PLoS One* 5:e12861.
- Burghaus L, Schutz U, Krempel U, de Vos RA, Jansen Steur EN, Wevers A, Lindstrom J, Schroder H (2000) Quantitative assessment of nicotinic acetylcholine receptor proteins in the cerebral cortex of Alzheimer patients. *Brain Res Mol Brain Res* 76:385-388.

## C

- Cacucci F, Yi M, Wills TJ, Chapman P, O'Keefe J (2008) Place cell firing correlates with memory deficits and amyloid plaque burden in Tg2576 Alzheimer mouse model. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:7863-7868.
- Cahill JF, Baxter MG (2001) Cholinergic and noncholinergic septal neurons modulate strategy selection in spatial learning. *Eur J Neurosci* 14:1856-1864.
- Caille I, Allinquant B, Dupont E, Bouillot C, Langer A, Muller U, Prochiantz A (2004) Soluble form of amyloid precursor protein regulates proliferation of progenitors in the adult subventricular zone. *Development* 131:2173-2181.
- Callen DJ, Black SE, Gao F, Caldwell CB, Szalai JP (2001) Beyond the hippocampus: MRI volumetry confirms widespread limbic atrophy in AD. *Neurology* 57:1669-1674.
- Campion D, Flaman JM, Brice A, Hannequin D, Dubois B, Martin C, Moreau V, Charbonnier F, Didierjean O, Tardieu S, et al. (1995) Mutations of the presenilin I gene in families with early-onset Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet* 4:2373-2377.
- Campion D, Dumanchin C, Hannequin D, Dubois B, Belliard S, Puel M, Thomas-Anterion C, Michon A, Martin C, Charbonnier F, Raux G, Camuzat A, Penet C, Mesnage V, Martinez M, Clerget-Darpoux F, Brice A, Frebourg T (1999) Early-onset autosomal dominant Alzheimer disease: prevalence, genetic heterogeneity, and mutation spectrum. *Am J Hum Genet* 65:664-670.
- Canobbio I, Abubaker AA, Visconte C, Torti M, Pula G (2015) Role of amyloid peptides in vascular dysfunction and platelet dysregulation in Alzheimer's disease. *Front Cell Neurosci* 9:65.
- Carlson MC, Helms MJ, Steffens DC, Burke JR, Potter GG, Plassman BL (2008) Midlife activity predicts risk of dementia in older male twin pairs. *Alzheimers Dement* 4:324-331.
- Carmichael ST, Price JL (1995) Limbic connections of the orbital and medial prefrontal cortex in macaque monkeys. *J Comp Neurol* 363:615-641.
- Carr DB, Sesack SR (1996) Hippocampal afferents to the rat prefrontal cortex: synaptic targets and relation to dopamine terminals. *J Comp Neurol* 369:1-15.
- Carroll JC, Rosario ER, Chang L, Stanczyk FZ, Oddo S, LaFerla FM, Pike CJ (2007) Progesterone and estrogen regulate Alzheimer-like neuropathology in female 3xTg-AD mice. *J Neurosci* 27:13357-13365.
- Carulla N, Caddy GL, Hall DR, Zurdo J, Gairi M, Feliz M, Giralt E, Robinson CV, Dobson CM (2005) Molecular recycling within amyloid fibrils. *Nature* 436:554-558.
- Castaneda MT, Sanabria ER, Hernandez S, Ayala A, Reyna TA, Wu JY, Colom LV (2005) Glutamic acid decarboxylase isoforms are differentially distributed in the septal region of the rat. *Neurosci Res* 52:107-119.
- Castellano JM, Kim J, Stewart FR, Jiang H, DeMattos RB, Patterson BW, Fagan AM, Morris JC, Mawuenyega KG, Cruchaga C, Goate AM, Bales KR, Paul SM, Bateman RJ, Holtzman DM (2011) Human apoE isoforms differentially regulate brain amyloid-beta peptide clearance. *Sci Transl Med* 3:89ra57.
- Castner SA, Smagin GN, Piser TM, Wang Y, Smith JS, Christian EP, Mrzljak L, Williams GV (2011) Immediate and sustained improvements in working memory after selective stimulation of alpha7 nicotinic acetylcholine receptors. *Biol Psychiatry* 69:12-18.
- Caughey B, Lansbury PT (2003) Protofibrils, pores, fibrils, and neurodegeneration: separating the responsible protein aggregates from the innocent bystanders. *Annu Rev Neurosci* 26:267-298.



- Celerier A, Pierard C, Beracochea D (2004) Effects of ibotenic acid lesions of the dorsal hippocampus on contextual fear conditioning in mice: comparison with mammillary body lesions. *Behav Brain Res* 151:65-72.
- Cerasoli E, Ryadnov MG, Austen BM (2015) The elusive nature and diagnostics of misfolded Abeta oligomers. *Front Chem* 3:17.
- Chambon C, Wegener N, Gravius A, Danysz W (2011) Behavioural and cellular effects of exogenous amyloid-beta peptides in rodents. *Behav Brain Res* 225:623-641.
- Chang KT, Berg DK (1999) Nicotinic acetylcholine receptors containing alpha7 subunits are required for reliable synaptic transmission in situ. *J Neurosci* 19:3701-3710.
- Chang Q, Gold PE (2003) Switching memory systems during learning: changes in patterns of brain acetylcholine release in the hippocampus and striatum in rats. *J Neurosci* 23:3001-3005.
- Chang Q, Gold PE (2004) Impaired and spared cholinergic functions in the hippocampus after lesions of the medial septum/vertical limb of the diagonal band with 192 IgG-saporin. *Hippocampus* 14:170-179.
- Changeux JP, Devillers-Thiery A, Chemouilli P (1984) Acetylcholine receptor: an allosteric protein. *Science* 225:1335-1345.
- Chauveau F, Celerier A, Ognard R, Pierard C, Beracochea D (2005) Effects of ibotenic acid lesions of the mediodorsal thalamus on memory: relationship with emotional processes in mice. *Behav Brain Res* 156:215-223.
- Cheng Q, Yakel JL (2014) Presynaptic alpha7 nicotinic acetylcholine receptors enhance hippocampal mossy fiber glutamatergic transmission via PKA activation. *J Neurosci* 34:124-133.
- Cheng Q, Yakel JL (2015) The effect of alpha7 nicotinic receptor activation on glutamatergic transmission in the hippocampus. *Biochem Pharmacol*.
- Chiba T, Yamada M, Hashimoto Y, Sato M, Sasabe J, Kita Y, Terashita K, Aiso S, Nishimoto I, Matsuoka M (2005) Development of a femtomolar-acting humanin derivative named colivelin by attaching activity-dependent neurotrophic factor to its N terminus: characterization of colivelin-mediated neuroprotection against Alzheimer's disease-relevant insults in vitro and in vivo. *J Neurosci* 25:10252-10261.
- Cho HJ, Kim SK, Jin SM, Hwang EM, Kim YS, Huh K, Mook-Jung I (2007) IFN-gamma-induced BACE1 expression is mediated by activation of JAK2 and ERK1/2 signaling pathways and direct binding of STAT1 to BACE1 promoter in astrocytes. *Glia* 55:253-262.
- Choi SH, Park CH, Koo JW, Seo JH, Kim HS, Jeong SJ, Lee JH, Kim SS, Suh YH (2001) Memory impairment and cholinergic dysfunction by centrally administered Abeta and carboxyl-terminal fragment of Alzheimer's APP in mice. *FASEB J* 15:1816-1818.
- Christensen R, Marcussen AB, Wortwein G, Knudsen GM, Aznar S (2008) Abeta(1-42) injection causes memory impairment, lowered cortical and serum BDNF levels, and decreased hippocampal 5-HT(2A) levels. *Exp Neurol* 210:164-171.
- Chrobak JJ, Hanin I, Schmechel DE, Walsh TJ (1988) AF64A-induced working memory impairment: behavioral, neurochemical and histological correlates. *Brain Res* 463:107-117.
- Chung SY, Moriyama T, Uezu E, Uezu K, Hirata R, Yohena N, Masuda Y, Kokubu T, Yamamoto S (1995) Administration of phosphatidylcholine increases brain acetylcholine concentration and improves memory in mice with dementia. *J Nutr* 125:1484-1489.

- Citron M, Oltersdorf T, Haass C, McConlogue L, Hung AY, Seubert P, Vigo-Pelfrey C, Lieberburg I, Selkoe DJ (1992) Mutation of the beta-amyloid precursor protein in familial Alzheimer's disease increases beta-protein production. *Nature* 360:672-674.
- Claeysen S, Cochet M, Donneger R, Dumuis A, Bockaert J, Giannoni P (2012) Alzheimer culprits: cellular crossroads and interplay. *Cell Signal* 24:1831-1840.
- Cleary JP, Walsh DM, Hofmeister JJ, Shankar GM, Kuskowski MA, Selkoe DJ, Ashe KH (2005) Natural oligomers of the amyloid-beta protein specifically disrupt cognitive function. *Nat Neurosci* 8:79-84.
- Cohen EL, Wurtman RJ (1975) Brain acetylcholine: increase after systemic choline administration. *Life Sci* 16:1095-1102.
- Cole SL, Vassar R (2007) The Alzheimer's disease beta-secretase enzyme, BACE1. *Mol Neurodegener* 2:22.
- Colombo SF, Mazzo F, Pistillo F, Gotti C (2013) Biogenesis, trafficking and up-regulation of nicotinic ACh receptors. *Biochem Pharmacol* 86:1063-1073.
- Colombo A, Bastone A, Ploia C, Sclip A, Salmona M, Forloni G, Borsello T (2009) JNK regulates APP cleavage and degradation in a model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis* 33:518-525.
- Colurso GJ, Nilson JE, Vervoort LG (2003) Quantitative assessment of DNA fragmentation and beta-amyloid deposition in insular cortex and midfrontal gyrus from patients with Alzheimer's disease. *Life Sci* 73:1795-1803.
- Commenges D, Scotet V, Renaud S, Jacqmin-Gadda H, Barberger-Gateau P, Dartigues JF (2000) Intake of flavonoids and risk of dementia. *Eur J Epidemiol* 16:357-363.
- Contestabile A (2011) The history of the cholinergic hypothesis. *Behav Brain Res* 221:334-340.
- Cooper E, Couturier S, Ballivet M (1991) Pentameric structure and subunit stoichiometry of a neuronal nicotinic acetylcholine receptor. *Nature* 350:235-238.
- Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW, Roses AD, Haines JL, Pericak-Vance MA (1993) Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 261:921-923.
- Counts SE, He B, Che S, Ikonovic MD, DeKosky ST, Ginsberg SD, Mufson EJ (2007) Alpha7 nicotinic receptor up-regulation in cholinergic basal forebrain neurons in Alzheimer disease. *Arch Neurol* 64:1771-1776.
- Court JA, Piggott MA, Lloyd S, Cookson N, Ballard CG, McKeith IG, Perry RH, Perry EK (2000) Nicotine binding in human striatum: elevation in schizophrenia and reductions in dementia with Lewy bodies, Parkinson's disease and Alzheimer's disease and in relation to neuroleptic medication. *Neuroscience* 98:79-87.
- Courtney C, Farrell D, Gray R, Hills R, Lynch L, Sellwood E, Edwards S, Hardyman W, Raftery J, Crome P, Lendon C, Shaw H, Bentham P (2004) Long-term donepezil treatment in 565 patients with Alzheimer's disease (AD2000): randomised double-blind trial. *Lancet* 363:2105-2115.
- Crocco E, Curiel RE, Acevedo A, Czaja SJ, Loewenstein DA (2014) An evaluation of deficits in semantic cueing and proactive and retroactive interference as early features of Alzheimer's disease. *Am J Geriatr Psychiatry* 22:889-897.
- Cummings JL (2004) Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 351:56-67.
- Curzon P, Anderson DJ, Nikkel AL, Fox GB, Gopalakrishnan M, Decker MW, Bitner RS (2006) Antisense knockdown of the rat alpha7 nicotinic acetylcholine receptor produces spatial memory impairment. *Neurosci Lett* 410:15-19.

## D

- Dagnas M, Guillou JL, Prevot T, Mons N (2013) HDAC inhibition facilitates the switch between memory systems in young but not aged mice. *J Neurosci* 33:1954-1963.
- Dajas-Bailador F, Wonnacott S (2004) Nicotinic acetylcholine receptors and the regulation of neuronal signalling. *Trends Pharmacol Sci* 25:317-324.
- Dajas-Bailador FA, Soliakov L, Wonnacott S (2002) Nicotine activates the extracellular signal-regulated kinase 1/2 via the  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor and protein kinase A, in SH-SY5Y cells and hippocampal neurones. *J Neurochem* 80:520-530.
- Dalley JW, Theobald DE, Bouger P, Chudasama Y, Cardinal RN, Robbins TW (2004) Cortical cholinergic function and deficits in visual attentional performance in rats following 192 IgG-saporin-induced lesions of the medial prefrontal cortex. *Cereb Cortex* 14:922-932.
- D'Andrea MR, Nagele RG (2006) Targeting the  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor to reduce amyloid accumulation in Alzheimer's disease pyramidal neurons. *Curr Pharm Des* 12:677-684.
- Dani JA (2001) Overview of nicotinic receptors and their roles in the central nervous system. *Biol Psychiatry* 49:166-174.
- Dani JA, Bertrand D (2007) Nicotinic acetylcholine receptors and nicotinic cholinergic mechanisms of the central nervous system. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 47:699-729.
- Daugherty BL, Green SA (2001) Endosomal sorting of amyloid precursor protein-P-selectin chimeras influences secretase processing. *Traffic* 2:908-916.
- Davis KL, Berger PA (1978) Pharmacological investigations of the cholinergic imbalance hypotheses of movement disorders and psychosis. *Biol Psychiatry* 13:23-49.
- De Strooper B, Annaert W (2000) Proteolytic processing and cell biological functions of the amyloid precursor protein. *J Cell Sci* 113 ( Pt 11):1857-1870.
- De Strooper B, Saftig P, Craessaerts K, Vanderstichele H, Guhde G, Annaert W, Von Figura K, Van Leuven F (1998) Deficiency of presenilin-1 inhibits the normal cleavage of amyloid precursor protein. *Nature* 391:387-390.
- Decker MW, Pelleymounter MA, Gallagher M (1988) Effects of training on a spatial memory task on high affinity choline uptake in hippocampus and cortex in young adult and aged rats. *J Neurosci* 8:90-99.
- Degroot A, Treit D (2002) Dorsal and ventral hippocampal cholinergic systems modulate anxiety in the plus-maze and shock-probe tests. *Brain Res* 949:60-70.
- Degroot A, Treit D (2003) Septal GABAergic and hippocampal cholinergic systems interact in the modulation of anxiety. *Neuroscience* 117:493-501.
- DeKosky ST, Harbaugh RE, Schmitt FA, Bakay RA, Chui HC, Knopman DS, Reeder TM, Shetter AG, Senter HJ, Markesbery WR (1992) Cortical biopsy in Alzheimer's disease: diagnostic accuracy and neurochemical, neuropathological, and cognitive correlations. Intraventricular Bethanecol Study Group. *Ann Neurol* 32:625-632.
- Dember WN, Fowler H (1958) Spontaneous alternation behavior. *Psychol Bull* 55:412-428.
- Deutsch JA (1971) The cholinergic synapse and the site of memory. *Science* 174:788-794.
- Deutsch SI, Burket JA, Benson AD (2014) Targeting the  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor to prevent progressive dementia and improve cognition in adults with Down's syndrome. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 54:131-139.

- DeVito LM, Eichenbaum H (2010) Distinct contributions of the hippocampus and medial prefrontal cortex to the "what-where-when" components of episodic-like memory in mice. *Behav Brain Res* 215:318-325.
- Dickerson BC (2006) Functional magnetic resonance imaging of cholinergic modulation in mild cognitive impairment. *Curr Opin Psychiatry* 19:299-306.
- Dickson TC, Vickers JC (2001) The morphological phenotype of beta-amyloid plaques and associated neuritic changes in Alzheimer's disease. *Neuroscience* 105:99-107.
- Dineley KT, Pandya AA, Yakel JL (2015) Nicotinic ACh receptors as therapeutic targets in CNS disorders. *Trends Pharmacol Sci* 36:96-108.
- Dineley KT, Bell KA, Bui D, Sweatt JD (2002) beta -Amyloid peptide activates alpha 7 nicotinic acetylcholine receptors expressed in *Xenopus* oocytes. *J Biol Chem* 277:25056-25061.
- Dineley KT, Hogan D, Zhang WR, Taglialatela G (2007) Acute inhibition of calcineurin restores associative learning and memory in Tg2576 APP transgenic mice. *Neurobiol Learn Mem* 88:217-224.
- Dineley KT, Westerman M, Bui D, Bell K, Ashe KH, Sweatt JD (2001) Beta-amyloid activates the mitogen-activated protein kinase cascade via hippocampal alpha7 nicotinic acetylcholine receptors: In vitro and in vivo mechanisms related to Alzheimer's disease. *J Neurosci* 21:4125-4133.
- Dishman RK (2006) The new emergence of exercise neurobiology. *Scand J Med Sci Sports* 16:379-380.
- Divac I (1975) Magnocellular nuclei of the basal forebrain project to neocortex, brain stem, and olfactory bulb. Review of some functional correlates. *Brain Res* 93:385-398.
- Divry P and Florkin M (1927) Sur les propriétés optiques de l'amyloïde. *CR Soc Biol (Paris)* 97: 1808-1810.
- Dominguez G, Dagnas M, Decorte L, Vandesquille M, Belzung C, Beracochea D, Mons N (2014) Rescuing prefrontal cAMP-CREB pathway reverses working memory deficits during withdrawal from prolonged alcohol exposure. *Brain Struct Funct*.
- Dorey R, Pierard C, Chauveau F, David V, Beracochea D (2012) Stress-induced memory retrieval impairments: different time-course involvement of corticosterone and glucocorticoid receptors in dorsal and ventral hippocampus. *Neuropsychopharmacology* 37:2870-2880.
- Dougherty JJ, Wu J, Nichols RA (2003) Beta-amyloid regulation of presynaptic nicotinic receptors in rat hippocampus and neocortex. *J Neurosci* 23:6740-6747.
- Drachman DA, Leavitt J (1974) Human memory and the cholinergic system. A relationship to aging? *Arch Neurol* 30:113-121.
- Drachman DA, Noffsinger D, Sahakian BJ, Kurdziel S, Fleming P (1980) Aging, memory, and the cholinergic system: a study of dichotic listening. *Neurobiol Aging* 1:39-43.
- Drewes G, Lichtenberg-Kraag B, Doring F, Mandelkow EM, Biernat J, Goris J, Doree M, Mandelkow E (1992) Mitogen activated protein (MAP) kinase transforms tau protein into an Alzheimer-like state. *EMBO J* 11:2131-2138.
- Driesen NR, McCarthy G, Bhagwagar Z, Bloch MH, Calhoun VD, D'Souza DC, Gueorguieva R, He G, Leung HC, Ramani R, Anticevic A, Suckow RF, Morgan PT, Krystal JH (2013) The impact of NMDA receptor blockade on human working memory-related prefrontal function and connectivity. *Neuropsychopharmacology* 38:2613-2622.
- Duering M, Grimm MO, Grimm HS, Schroder J, Hartmann T (2005) Mean age of onset in familial Alzheimer's disease is determined by amyloid beta 42. *Neurobiol Aging* 26:785-788.

- Dulin F, Leveille F, Ortega JB, Mornon JP, Buisson A, Callebaut I, Colloc'h N (2008) P3 peptide, a truncated form of A beta devoid of synaptotoxic effect, does not assemble into soluble oligomers. *FEBS Lett* 582:1865-1870.
- Dunnett SB, Fibiger HC (1993) Role of forebrain cholinergic systems in learning and memory: relevance to the cognitive deficits of aging and Alzheimer's dementia. *Prog Brain Res* 98:413-420.
- Duyckaerts C, Potier MC, Delatour B (2008) Alzheimer disease models and human neuropathology: similarities and differences. *Acta Neuropathol* 115:5-38.
- Dziewczapolski G, Glogowski CM, Masliah E, Heinemann SF (2009) Deletion of the alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor gene improves cognitive deficits and synaptic pathology in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci* 29:8805-8815.

## E-F

- Echeverria V, Ducatenzeiler A, Dowd E, Janne J, Grant SM, Szyf M, Wandosell F, Avila J, Grimm H, Dunnett SB, Hartmann T, Alhonen L, Cuellar AC (2004) Altered mitogen-activated protein kinase signaling, tau hyperphosphorylation and mild spatial learning dysfunction in transgenic rats expressing the beta-amyloid peptide intracellularly in hippocampal and cortical neurons. *Neuroscience* 129:583-592.
- Edelstein SJ, Changeux JP (1996) Allosteric proteins after thirty years: the binding and state functions of the neuronal alpha 7 nicotinic acetylcholine receptors. *Experientia* 52:1083-1090.
- Egger GJ (1973) Novelty induced changes in spontaneous alternation by infant and adult rats. *Dev Psychobiol* 6:431-435.
- Elder GA, Gama Sosa MA, De Gasperi R (2010) Transgenic mouse models of Alzheimer's disease. *Mt Sinai J Med* 77:69-81.
- Elvander-Tottie E, Eriksson TM, Sandin J, Ogren SO (2006) N-methyl-D-aspartate receptors in the medial septal area have a role in spatial and emotional learning in the rat. *Neuroscience* 142:963-978.
- Espana J, Gimenez-Llort L, Valero J, Minano A, Rabano A, Rodriguez-Alvarez J, LaFerla FM, Saura CA (2010) Intraneuronal beta-amyloid accumulation in the amygdala enhances fear and anxiety in Alzheimer's disease transgenic mice. *Biol Psychiatry* 67:513-521.
- Everitt BJ, Robbins TW (1997) Central cholinergic systems and cognition. *Annu Rev Psychol* 48:649-684.
- Fabian-Fine R, Skehel P, Errington ML, Davies HA, Sher E, Stewart MG, Fine A (2001) Ultrastructural distribution of the alpha7 nicotinic acetylcholine receptor subunit in rat hippocampus. *J Neurosci* 21:7993-8003.
- Fadda F, Melis F, Stancampiano R (1996) Increased hippocampal acetylcholine release during a working memory task. *Eur J Pharmacol* 307:R1-2.
- Fadda F, Cocco S, Stancampiano R (2000) Hippocampal acetylcholine release correlates with spatial learning performance in freely moving rats. *Neuroreport* 11:2265-2269.
- Fagan AM, Watson M, Parsadanian M, Bales KR, Paul SM, Holtzman DM (2002) Human and murine ApoE markedly alters A beta metabolism before and after plaque formation in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis* 9:305-318.
- Farrer LA, Cupples LA, Haines JL, Hyman B, Kukull WA, Mayeux R, Myers RH, Pericak-Vance MA, Risch N, van Duijn CM (1997) Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta-

- analysis. APOE and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium. *JAMA* 278:1349-1356.
- Farris W, Mansourian S, Chang Y, Lindsley L, Eckman EA, Frosch MP, Eckman CB, Tanzi RE, Selkoe DJ, Guenette S (2003) Insulin-degrading enzyme regulates the levels of insulin, amyloid beta-protein, and the beta-amyloid precursor protein intracellular domain in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:4162-4167.
- Fayuk D, Yakel JL (2007) Dendritic Ca<sup>2+</sup> signalling due to activation of alpha 7-containing nicotinic acetylcholine receptors in rat hippocampal neurons. *J Physiol* 582:597-611.
- Fernandes C, Hoyle E, Dempster E, Schalkwyk LC, Collier DA (2006) Performance deficit of alpha7 nicotinic receptor knockout mice in a delayed matching-to-place task suggests a mild impairment of working/episodic-like memory. *Genes Brain Behav* 5:433-440.
- Fijal K, Nowak E, Leskiewicz M, Budziszewska B, Filip M (2015) Working memory deficits and alterations of ERK and CREB phosphorylation following withdrawal from cocaine self-administration. *Pharmacol Rep* 67:881-889.
- Finder VH, Glockshuber R (2007) Amyloid-beta aggregation. *Neurodegener Dis* 4:13-27.
- Finkel SI, Costa e Silva J, Cohen G, Miller S, Sartorius N (1996) Behavioral and psychological signs and symptoms of dementia: a consensus statement on current knowledge and implications for research and treatment. *Int Psychogeriatr* 8 Suppl 3:497-500.
- Flood JF, Uezu K, Morley JE (1998) Effect of histamine H2 and H3 receptor modulation in the septum on post-training memory processing. *Psychopharmacology (Berl)* 140:279-284.
- Follesa P, Tarantino A, Floris S, Mallei A, Porta S, Tuligi G, Cagetti E, Caddeo M, Mura A, Serra M, Biggio G (1999) Changes in the gene expression of GABAA receptor subunit mRNAs in the septum of rats subjected to pentylentetrazol-induced kindling. *Brain Res Mol Brain Res* 70:1-8.
- Forsberg A, Engler H, Almkvist O, Blomquist G, Hagman G, Wall A, Ringheim A, Langstrom B, Nordberg A (2008) PET imaging of amyloid deposition in patients with mild cognitive impairment. *Neurobiol Aging* 29:1456-1465.
- Frasca G, Carbonaro V, Merlo S, Copani A, Sortino MA (2008) Integrins mediate beta-amyloid-induced cell-cycle activation and neuronal death. *J Neurosci Res* 86:350-355.
- Fratiglioni L, Paillard-Borg S, Winblad B (2004) An active and socially integrated lifestyle in late life might protect against dementia. *Lancet Neurol* 3:343-353.
- Freo U, Pizzolato G, Dam M, Ori C, Battistin L (2002) A short review of cognitive and functional neuroimaging studies of cholinergic drugs: implications for therapeutic potentials. *J Neural Transm* 109:857-870.
- Freo U, Ricciardi E, Pietrini P, Schapiro MB, Rapoport SI, Furey ML (2005) Pharmacological modulation of prefrontal cortical activity during a working memory task in young and older humans: a PET study with physostigmine. *Am J Psychiatry* 162:2061-2070.
- Freund TF, Buzsaki G (1988) Alterations in excitatory and GABAergic inhibitory connections in hippocampal transplants. *Neuroscience* 27:373-385.
- Frisoni GB (2010) Alzheimer's disease neuroimaging initiative in Europe. *Alzheimers Dement* 6:280-285.
- Frisoni GB, Testa C, Zorzan A, Sabattoli F, Beltramello A, Soininen H, Laakso MP (2002) Detection of grey matter loss in mild Alzheimer's disease with voxel based morphometry. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 73:657-664.

- Frisoni GB, Rozzini L, Gozzetti A, Binetti G, Zanetti O, Bianchetti A, Trabucchi M, Cummings JL (1999) Behavioral syndromes in Alzheimer's disease: description and correlates. *Dement Geriatr Cogn Disord* 10:130-138.
- Fujii S, Ji Z, Sumikawa K (2000) Inactivation of alpha7 ACh receptors and activation of non-alpha7 ACh receptors both contribute to long term potentiation induction in the hippocampal CA1 region. *Neurosci Lett* 286:134-138.

## G

- Gais S, Born J (2004) Low acetylcholine during slow-wave sleep is critical for declarative memory consolidation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:2140-2144.
- Galdeano C, Viayna E, Sola I, Formosa X, Camps P, Badia A, Clos MV, Relat J, Ratia M, Bartolini M, Mancini F, Andrisano V, Salmona M, Minguillon C, Gonzalez-Munoz GC, Rodriguez-Franco MI, Bidon-Chanal A, Luque FJ, Munoz-Torrero D (2012) Huprine-tacrine heterodimers as anti-amyloidogenic compounds of potential interest against Alzheimer's and prion diseases. *J Med Chem* 55:661-669.
- Galzi JL, Devillers-Thierry A, Hussy N, Bertrand S, Changeux JP, Bertrand D (1992) Mutations in the channel domain of a neuronal nicotinic receptor convert ion selectivity from cationic to anionic. *Nature* 359:500-505.
- Games D, Adams D, Alessandrini R, Barbour R, Berthelette P, Blackwell C, Carr T, Clemens J, Donaldson T, Gillespie F, et al. (1995) Alzheimer-type neuropathology in transgenic mice overexpressing V717F beta-amyloid precursor protein. *Nature* 373:523-527.
- Garcia-Alloza M, Robbins EM, Zhang-Nunes SX, Purcell SM, Betensky RA, Raju S, Prada C, Greenberg SM, Bacskai BJ, Frosch MP (2006) Characterization of amyloid deposition in the APP<sup>swe</sup>/PS1<sup>dE9</sup> mouse model of Alzheimer disease. *Neurobiol Dis* 24:516-524.
- Gartner U, Hartig W, Brauer K, Bruckner G, Arendt T (2001) Immunofluorescence and immunoelectron microscopic evidence for differences in myelination of GABAergic and cholinergic septohippocampal fibres. *Int J Dev Neurosci* 19:347-352.
- Gauthier S, Reisberg B, Zaudig M, Petersen RC, Ritchie K, Broich K, Belleville S, Brodaty H, Bennett D, Chertkow H, Cummings JL, de Leon M, Feldman H, Ganguli M, Hampel H, Scheltens P, Tierney MC, Whitehouse P, Winblad B (2006) Mild cognitive impairment. *Lancet* 367:1262-1270.
- Georganopoulou DG, Chang L, Nam JM, Thaxton CS, Mufson EJ, Klein WL, Mirkin CA (2005) Nanoparticle-based detection in cerebral spinal fluid of a soluble pathogenic biomarker for Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:2273-2276.
- Ghasemi R, Zarifkar A, Rastegar K, Maghsoudi N, Moosavi M (2014) Repeated intra-hippocampal injection of beta-amyloid 25-35 induces a reproducible impairment of learning and memory: considering caspase-3 and MAPKs activity. *Eur J Pharmacol* 726:33-40.
- Ghribi O, Prammonjago P, Herman MM, Spaulding NK, Savory J (2003) Abeta(1-42)-induced JNK and ERK activation in rabbit hippocampus is differentially regulated by lithium but is not involved in the phosphorylation of tau. *Brain Res Mol Brain Res* 119:201-206.
- Giacobini E (2001) Is anti-cholinesterase therapy of Alzheimer's disease delaying progression? *Aging (Milano)* 13:247-254.

- Gill SK, Ishak M, Dobransky T, Haroutunian V, Davis KL, Rylett RJ (2007) 82-kDa choline acetyltransferase is in nuclei of cholinergic neurons in human CNS and altered in aging and Alzheimer disease. *Neurobiol Aging* 28:1028-1040.
- Giniatullin R, Nistri A, Yakel JL (2005) Desensitization of nicotinic ACh receptors: shaping cholinergic signaling. *Trends Neurosci* 28:371-378.
- Ginsberg SD, Martin LJ (1998) Ultrastructural analysis of the progression of neurodegeneration in the septum following fimbria-fornix transection. *Neuroscience* 86:1259-1272.
- Giovannini MG, Lana D, Pepeu G (2015) The integrated role of ACh, ERK and mTOR in the mechanisms of hippocampal inhibitory avoidance memory. *Neurobiol Learn Mem* 119:18-33.
- Giovannini MG, Rakovska A, Della Corte L, Bianchi L, Pepeu G (1998) Activation of non-NMDA receptors stimulates acetylcholine and GABA release from dorsal hippocampus: a microdialysis study in the rat. *Neurosci Lett* 243:152-156.
- Givens BS, Olton DS (1990) Cholinergic and GABAergic modulation of medial septal area: effect on working memory. *Behav Neurosci* 104:849-855.
- Glenner GG, Wong CW (1984) Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem Biophys Res Commun* 120:885-890.
- Goate A, Chartier-Harlin MC, Mullan M, Brown J, Crawford F, Fidani L, Giuffra L, Haynes A, Irving N, James L, et al. (1991) Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature* 349:704-706.
- Goedert M, Clavaguera F, Tolnay M (2010) The propagation of prion-like protein inclusions in neurodegenerative diseases. *Trends Neurosci* 33: 317-325.
- Goldgaber D, Lerman MI, McBride OW, Saffiotti U, Gajdusek DC (1987) Characterization and chromosomal localization of a cDNA encoding brain amyloid of Alzheimer's disease. *Science* 235:877-880.
- Goldman-Rakic PS, Selemon LD, Schwartz ML (1984) Dual pathways connecting the dorsolateral prefrontal cortex with the hippocampal formation and parahippocampal cortex in the rhesus monkey. *Neuroscience* 12:719-743.
- Gomez-Isla T, Price JL, McKeel DW, Jr., Morris JC, Growdon JH, Hyman BT (1996) Profound loss of layer II entorhinal cortex neurons occurs in very mild Alzheimer's disease. *J Neurosci* 16:4491-4500.
- Gomez-Isla T, Hollister R, West H, Mui S, Growdon JH, Petersen RC, Parisi JE, Hyman BT (1997) Neuronal loss correlates with but exceeds neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 41:17-24.
- Gotti C, Zoli M, Clementi F (2006) Brain nicotinic acetylcholine receptors: native subtypes and their relevance. *Trends Pharmacol Sci* 27:482-491.
- Gotz J, Chen F, van Dorpe J, Nitsch RM (2001) Formation of neurofibrillary tangles in P301 tau transgenic mice induced by Abeta 42 fibrils. *Science* 293:1491-1495.
- Gralle M, Ferreira ST (2007) Structure and functions of the human amyloid precursor protein: the whole is more than the sum of its parts. *Prog Neurobiol* 82:11-32.
- Grigoryan GA, Mitchell SN, Hodges H, Sinden JD, Gray JA (1994) Are the cognitive-enhancing effects of nicotine in the rat with lesions to the forebrain cholinergic projection system mediated by an interaction with the noradrenergic system? *Pharmacol Biochem Behav* 49:511-521.
- Gu Z, Yakel JL (2011) Timing-dependent septal cholinergic induction of dynamic hippocampal synaptic plasticity. *Neuron* 71:155-165.



- Guan ZZ, Zhang X, Ravid R, Nordberg A (2000) Decreased protein levels of nicotinic receptor subunits in the hippocampus and temporal cortex of patients with Alzheimer's disease. *J Neurochem* 74:237-243.
- Gubbins EJ, Gopalakrishnan M, Li J (2010) Alpha7 nAChR-mediated activation of MAP kinase pathways in PC12 cells. *Brain Res* 1328:1-11.
- Gulyas AI, Seress L, Toth K, Acsady L, Antal M, Freund TF (1991) Septal GABAergic neurons innervate inhibitory interneurons in the hippocampus of the macaque monkey. *Neuroscience* 41:381-390.

## H

- Haass C, Selkoe DJ (2007) Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid beta-peptide. *Nat Rev Mol Cell Biol* 8:101-112.
- Haass C, Schlossmacher MG, Hung AY, Vigo-Pelfrey C, Mellon A, Ostaszewski BL, Lieberburg I, Koo EH, Schenk D, Teplow DB, et al. (1992) Amyloid beta-peptide is produced by cultured cells during normal metabolism. *Nature* 359:322-325.
- Hajos M, Hurst RS, Hoffmann WE, Krause M, Wall TM, Higdon NR, Groppi VE (2005) The selective alpha7 nicotinic acetylcholine receptor agonist PNU-282987 [N-[(3R)-1-Azabicyclo[2.2.2]oct-3-yl]-4-chlorobenzamide hydrochloride] enhances GABAergic synaptic activity in brain slices and restores auditory gating deficits in anesthetized rats. *J Pharmacol Exp Ther* 312:1213-1222.
- Hall AM, Roberson ED (2012) Mouse models of Alzheimer's disease. *Brain Res Bull* 88:3-12.
- Hardy J (1997) Amyloid, the presenilins and Alzheimer's disease. *Trends Neurosci* 20:154-159.
- Hardy JA, Higgins GA (1992) Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science* 256:184-185.
- Hardy J, Selkoe DJ (2002) The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science* 297:353-356.
- Harkany T, De Jong GI, Soos K, Penke B, Luiten PG, Gulya K (1995) Beta-amyloid (1-42) affects cholinergic but not parvalbumin-containing neurons in the septal complex of the rat. *Brain Res* 698:270-274.
- Harkany T, Lengyel Z, Soos K, Penke B, Luiten PG, Gulya K (1995) Cholinotoxic effects of beta-amyloid (1-42) peptide on cortical projections of the rat nucleus basalis magnocellularis. *Brain Res* 695:71-75.
- Hasselmo ME (2006) The role of acetylcholine in learning and memory. *Curr Opin Neurobiol* 16:710-715.
- Hasselmo ME, Bower JM (1993) Acetylcholine and memory. *Trends Neurosci* 16:218-222.
- Hasselmo ME, Wyble BP, Wallenstein GV (1996) Encoding and retrieval of episodic memories: role of cholinergic and GABAergic modulation in the hippocampus. *Hippocampus* 6:693-708.
- Heidbreder CA, Groenewegen HJ (2003) The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. *Neurosci Biobehav Rev* 27:555-579.
- Hellstrom-Lindahl E, Mousavi M, Ravid R, Nordberg A (2004) Reduced levels of Abeta 40 and Abeta 42 in brains of smoking controls and Alzheimer's patients. *Neurobiol Dis* 15:351-360.
- Henderson Z, Jones GA (2005) GABAB receptors in the medial septum/diagonal band slice from 16-25 day rat. *Neuroscience* 132:789-800.

- Hernandez CM, Dineley KT (2012)  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptors in Alzheimer's disease: neuroprotective, neurotrophic or both? *Curr Drug Targets* 13:613-622.
- Hernandez CM, Kaye R, Zheng H, Sweatt JD, Dineley KT (2010) Loss of  $\alpha 7$  nicotinic receptors enhances beta-amyloid oligomer accumulation, exacerbating early-stage cognitive decline and septohippocampal pathology in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci* 30:2442-2453.
- Herrup K (2015) The case for rejecting the amyloid cascade hypothesis. *Nat Neurosci* 18:794-799.
- Heston LL, Mastri AR, Anderson VE, White J (1981) Dementia of the Alzheimer type. Clinical genetics, natural history, and associated conditions. *Arch Gen Psychiatry* 38:1085-1090.
- Higgins LS, Murphy GM, Jr., Forno LS, Catalano R, Cordell B (1996) P3 beta-amyloid peptide has a unique and potentially pathogenic immunohistochemical profile in Alzheimer's disease brain. *Am J Pathol* 149:585-596.
- Hirsch MJ, Wurtman RJ (1978) Lecithin consumption increases acetylcholine concentrations in rat brain and adrenal gland. *Science* 202:223-225.
- Hock C, Konietzko U, Streffer JR, Tracy J, Signorell A, Muller-Tillmanns B, Lemke U, Henke K, Moritz E, Garcia E, Wollmer MA, Umbricht D, de Quervain DJ, Hofmann M, Maddalena A, Papassotiropoulos A, Nitsch RM (2003) Antibodies against beta-amyloid slow cognitive decline in Alzheimer's disease. *Neuron* 38:547-554.
- Hodges H, Allen Y, Kershaw T, Lantos PL, Gray JA, Sinden J (1991) Effects of cholinergic-rich neural grafts on radial maze performance of rats after excitotoxic lesions of the forebrain cholinergic projection system--I. Amelioration of cognitive deficits by transplants into cortex and hippocampus but not into basal forebrain. *Neuroscience* 45:587-607.
- Hoefler M, Allison SC, Schauer GF, Neuhaus JM, Hall J, Dang JN, Weiner MW, Miller BL, Rosen HJ (2008) Fear conditioning in frontotemporal lobar degeneration and Alzheimer's disease. *Brain* 131:1646-1657.
- Holcomb LA, Gordon MN, Jantzen P, Hsiao K, Duff K, Morgan D (1999) Behavioral changes in transgenic mice expressing both amyloid precursor protein and presenilin-1 mutations: lack of association with amyloid deposits. *Behav Genet* 29:177-185.
- Holcomb L, Gordon MN, McGowan E, Yu X, Benkovic S, Jantzen P, Wright K, Saad I, Mueller R, Morgan D, Sanders S, Zehr C, O'Campo K, Hardy J, Prada CM, Eckman C, Younkin S, Hsiao K, Duff K (1998) Accelerated Alzheimer-type phenotype in transgenic mice carrying both mutant amyloid precursor protein and presenilin 1 transgenes. *Nat Med* 4:97-100.
- Honer WG (2003) Pathology of presynaptic proteins in Alzheimer's disease: more than simple loss of terminals. *Neurobiol Aging* 24:1047-1062.
- Hort J, Laczó J, Vyhnalek M, Bojar M, Bures J, Vlcek K (2007) Spatial navigation deficit in amnesic mild cognitive impairment. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:4042-4047.
- Hoshi M, Takashima A, Murayama M, Yasutake K, Yoshida N, Ishiguro K, Hoshino T, Imahori K (1997) Nontoxic amyloid beta peptide 1-42 suppresses acetylcholine synthesis. Possible role in cholinergic dysfunction in Alzheimer's disease. *J Biol Chem* 272:2038-2041.
- Hruska Z, Dohanich GP (2007) The effects of chronic estradiol treatment on working memory deficits induced by combined infusion of beta-amyloid (1-42) and ibotenic acid. *Horm Behav* 52:297-306.
- Hsia AY, Masliah E, McConlogue L, Yu GQ, Tatsuno G, Hu K, Kholodenko D, Malenka RC, Nicoll RA, Mucke L (1999) Plaque-independent disruption of neural circuits in Alzheimer's disease mouse models. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:3228-3233.

- Hsiao K, Chapman P, Nilsen S, Eckman C, Harigaya Y, Younkin S, Yang F, Cole G (1996) Correlative memory deficits, Abeta elevation, and amyloid plaques in transgenic mice. *Science* 274:99-102.
- Hu W, Gray NW, Brimijoin S (2003) Amyloid-beta increases acetylcholinesterase expression in neuroblastoma cells by reducing enzyme degradation. *J Neurochem* 86:470-478.
- Huang Y, Mucke L (2012) Alzheimer mechanisms and therapeutic strategies. *Cell* 148:1204-1222.
- Huang TH, Yang DS, Fraser PE, Chakrabartty A (2000) Alternate aggregation pathways of the Alzheimer beta-amyloid peptide. An in vitro model of preamyloid. *J Biol Chem* 275:36436-36440.
- Hung LW, Ciccotosto GD, Giannakis E, Tew DJ, Perez K, Masters CL, Cappai R, Wade JD, Barnham KJ (2008) Amyloid-beta peptide (Abeta) neurotoxicity is modulated by the rate of peptide aggregation: Abeta dimers and trimers correlate with neurotoxicity. *J Neurosci* 28:11950-11958.
- Hunter BE, de Fiebre CM, Papke RL, Kem WR, Meyer EM (1994) A novel nicotinic agonist facilitates induction of long-term potentiation in the rat hippocampus. *Neurosci Lett* 168:130-134.
- Hurst R, Rollema H, Bertrand D (2013) Nicotinic acetylcholine receptors: from basic science to therapeutics. *Pharmacol Ther* 137:22-54.

## I-J

- Ikonomovic MD, Wecker L, Abrahamson EE, Wu J, Counts SE, Ginsberg SD, Mufson EJ, Dekosky ST (2009) Cortical alpha7 nicotinic acetylcholine receptor and beta-amyloid levels in early Alzheimer disease. *Arch Neurol* 66:646-651.
- Inestrosa NC, Godoy JA, Vargas JY, Arrazola MS, Rios JA, Carvajal FJ, Serrano FG, Farias GG (2013) Nicotine prevents synaptic impairment induced by amyloid-beta oligomers through alpha7-nicotinic acetylcholine receptor activation. *Neuromolecular Med* 15:549-569.
- Inestrosa NC, Alvarez A, Perez CA, Moreno RD, Vicente M, Linker C, Casanueva OI, Soto C, Garrido J (1996) Acetylcholinesterase accelerates assembly of amyloid-beta-peptides into Alzheimer's fibrils: possible role of the peripheral site of the enzyme. *Neuron* 16:881-891.
- Irie K, Murakami K, Masuda Y, Morimoto A, Ohigashi H, Ohashi R, Takegoshi K, Nagao M, Shimizu T, Shirasawa T (2005) Structure of beta-amyloid fibrils and its relevance to their neurotoxicity: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. *J Biosci Bioeng* 99:437-447.
- Izaki Y, Takita M, Akema T (2008) Specific role of the posterior dorsal hippocampus-prefrontal cortex in short-term working memory. *Eur J Neurosci* 27:3029-3034.
- Jack CR, Jr., Bernstein MA, Borowski BJ, Gunter JL, Fox NC, Thompson PM, Schuff N, Krueger G, Killiany RJ, Decarli CS, Dale AM, Carmichael OW, Tosun D, Weiner MW (2010) Update on the magnetic resonance imaging core of the Alzheimer's disease neuroimaging initiative. *Alzheimers Dement* 6:212-220.
- Jacobsen JS, Wu CC, Redwine JM, Comery TA, Arias R, Bowlby M, Martone R, Morrison JH, Pangalos MN, Reinhart PH, Bloom FE (2006) Early-onset behavioral and synaptic deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:5161-5166.

- Jankowsky JL, Slunt HH, Gonzales V, Jenkins NA, Copeland NG, Borchelt DR (2004) APP processing and amyloid deposition in mice haplo-insufficient for presenilin 1. *Neurobiol Aging* 25:885-892.
- Jay TM, Witter MP (1991) Distribution of hippocampal CA1 and subicular efferents in the prefrontal cortex of the rat studied by means of anterograde transport of Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin. *J Comp Neurol* 313:574-586.
- Jay TM, Gurden H, Yamaguchi T (1998) Rapid increase in PKA activity during long-term potentiation in the hippocampal afferent fibre system to the prefrontal cortex in vivo. *Eur J Neurosci* 10:3302-3306.
- Jhoo JH, Kim HC, Nabeshima T, Yamada K, Shin EJ, Jhoo WK, Kim W, Kang KS, Jo SA, Woo JI (2004) Beta-amyloid (1-42)-induced learning and memory deficits in mice: involvement of oxidative burdens in the hippocampus and cerebral cortex. *Behav Brain Res* 155:185-196.
- Ji D, Dani JA (2000) Inhibition and disinhibition of pyramidal neurons by activation of nicotinic receptors on hippocampal interneurons. *J Neurophysiol* 83:2682-2690.
- Jin M, Shepardson N, Yang T, Chen G, Walsh D, Selkoe DJ (2011) Soluble amyloid beta-protein dimers isolated from Alzheimer cortex directly induce Tau hyperphosphorylation and neuritic degeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108:5819-5824.
- Jo S et al. (2014) GABA from reactive astrocytes impairs memory in mouse models of Alzheimer's disease. *Nat Med* 20:886-896.
- Jones IW, Wonnacott S (2004) Precise localization of alpha7 nicotinic acetylcholine receptors on glutamatergic axon terminals in the rat ventral tegmental area. *J Neurosci* 24:11244-11252.
- Jones S, Sudweeks S, Yakel JL (1999) Nicotinic receptors in the brain: correlating physiology with function. *Trends Neurosci* 22:555-561.
- Jonsson T et al. (2012) A mutation in APP protects against Alzheimer's disease and age-related cognitive decline. *Nature* 488:96-99.
- Joyce JN, Kaeger C, Ryoo H, Goldsmith S (1993) Dopamine D2 receptors in the hippocampus and amygdala in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 154:171-174.
- Juottonen K, Laakso MP, Insausti R, Lehtovirta M, Pitkanen A, Partanen K, Soininen H (1998) Volumes of the entorhinal and perirhinal cortices in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 19:15-22.

## K

- Kandel ER (1981) Calcium and the control of synaptic strength by learning. *Nature* 293:697-700.
- Kane MJ, Engle RW (2002) The role of prefrontal cortex in working-memory capacity, executive attention, and general fluid intelligence: an individual-differences perspective. *Psychon Bull Rev* 9:637-671.
- Kang J, Lemaire HG, Unterbeck A, Salbaum JM, Masters CL, Grzeschik KH, Multhaup G, Beyreuther K, Muller-Hill B (1987) The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. *Nature* 325:733-736.
- Kanju PM, Parameshwaran K, Sims-Robinson C, Uthayathas S, Josephson EM, Rajakumar N, Dhanasekaran M, Suppiramaniam V (2012) Selective cholinergic depletion in medial septum leads to impaired long term potentiation and glutamatergic synaptic currents in the hippocampus. *PLoS One* 7:e31073.

- Kenney JW, Gould TJ (2008) Modulation of hippocampus-dependent learning and synaptic plasticity by nicotine. *Mol Neurobiol* 38:101-121.
- Kesner RP (2005) Temporal processing of information: the role of the medial prefrontal cortex and hippocampus: theoretical comment on Gilmartin and McEchron (2005). *Behav Neurosci* 119:1705-1709.
- Kidd M (1963) Paired helical filaments in electron microscopy of Alzheimer's disease. *Nature* 197:192-193.
- Killcross S, Coutureau E (2003) Coordination of actions and habits in the medial prefrontal cortex of rats. *Cereb Cortex* 13:400-408.
- Kim EK, Choi EJ (2010) Pathological roles of MAPK signaling pathways in human diseases. *Biochim Biophys Acta* 1802:396-405.
- Kim HJ, Moon WJ, Han SH (2013) Differential cholinergic pathway involvement in Alzheimer's disease and subcortical ischemic vascular dementia. *J Alzheimers Dis* 35:129-136.
- King DL, Arendash GW, Crawford F, Sterk T, Menendez J, Mullan MJ (1999) Progressive and gender-dependent cognitive impairment in the APP(SW) transgenic mouse model for Alzheimer's disease. *Behav Brain Res* 103:145-162.
- Kirkitadze MD, Condron MM, Teplow DB (2001) Identification and characterization of key kinetic intermediates in amyloid beta-protein fibrillogenesis. *J Mol Biol* 312:1103-1119.
- Kivipelto M, Helkala EL, Laakso MP, Hanninen T, Hallikainen M, Alhainen K, Soininen H, Tuomilehto J, Nissinen A (2001) Midlife vascular risk factors and Alzheimer's disease in later life: longitudinal, population based study. *BMJ* 322:1447-1451.
- Klinkenberg I, Blokland A (2010) The validity of scopolamine as a pharmacological model for cognitive impairment: a review of animal behavioral studies. *Neurosci Biobehav Rev* 34:1307-1350.
- Koukouli F, Maskos U (2015) The multiple roles of the alpha7 nicotinic acetylcholine receptor in modulating glutamatergic systems in the normal and diseased nervous system. *Biochem Pharmacol*.
- Kovacs DM, Fausett HJ, Page KJ, Kim TW, Moir RD, Merriam DE, Hollister RD, Hallmark OG, Mancini R, Felsenstein KM, Hyman BT, Tanzi RE, Wasco W (1996) Alzheimer-associated presenilins 1 and 2: neuronal expression in brain and localization to intracellular membranes in mammalian cells. *Nat Med* 2:224-229.
- Kuhn PH, Wang H, Dislich B, Colombo A, Zeitschel U, Ellwart JW, Kremmer E, Rossner S, Lichtenthaler SF (2010) ADAM10 is the physiologically relevant, constitutive alpha-secretase of the amyloid precursor protein in primary neurons. *EMBO J* 29:3020-3032.
- Kunz L, Schroder TN, Lee H, Montag C, Lachmann B, Sariyska R, Reuter M, Stirnberg R, Stocker T, Messing-Floeter PC, Fell J, Doeller CF, Axmacher N (2015) Reduced grid-cell-like representations in adults at genetic risk for Alzheimer's disease. *Science* 350:430-433.
- Kuo YM, Emmerling MR, Vigo-Pelfrey C, Kasunic TC, Kirkpatrick JB, Murdoch GH, Ball MJ, Roher AE (1996) Water-soluble Abeta (N-40, N-42) oligomers in normal and Alzheimer disease brains. *J Biol Chem* 271:4077-4081.
- Kuperstein I, Broersen K, Benilova I, Rozenski J, Jonckheere W, Debulpaep M, Vandersteen A, Segers-Nolten I, Van Der Werf K, Subramaniam V, Braeken D, Callewaert G, Bartic C, D'Hooge R, Martins IC, Rousseau F, Schymkowitz J, De Strooper B (2010) Neurotoxicity of Alzheimer's disease Abeta peptides is induced by small changes in the Abeta42 to Abeta40 ratio. *EMBO J* 29:3408-3420.

## L

- Laakso MP, Soininen H, Partanen K, Lehtovirta M, Hallikainen M, Hanninen T, Helkala EL, Vainio P, Riekkinen PJ, Sr. (1998) MRI of the hippocampus in Alzheimer's disease: sensitivity, specificity, and analysis of the incorrectly classified subjects. *Neurobiol Aging* 19:23-31.
- Lacor PN, Buniel MC, Furlow PW, Clemente AS, Velasco PT, Wood M, Viola KL, Klein WL (2007) Abeta oligomer-induced aberrations in synapse composition, shape, and density provide a molecular basis for loss of connectivity in Alzheimer's disease. *J Neurosci* 27:796-807.
- LaFerla FM, Oddo S (2005) Alzheimer's disease: Abeta, tau and synaptic dysfunction. *Trends Mol Med* 11:170-176.
- Lagostena L, Trocme-Thibierge C, Morain P, Cherubini E (2008) The partial alpha7 nicotine acetylcholine receptor agonist S 24795 enhances long-term potentiation at CA3-CA1 synapses in the adult mouse hippocampus. *Neuropharmacology* 54:676-685.
- Lalonde R (2002) The neurobiological basis of spontaneous alternation. *Neurosci Biobehav Rev* 26:91-104.
- Lalowski M, Golabek A, Lemere CA, Selkoe DJ, Wisniewski HM, Beavis RC, Frangione B, Wisniewski T (1996) The "nonamyloidogenic" p3 fragment (amyloid beta17-42) is a major constituent of Down's syndrome cerebellar preamyloid. *J Biol Chem* 271:33623-33631.
- Lamb PW, Melton MA, Yakel JL (2005) Inhibition of neuronal nicotinic acetylcholine receptor channels expressed in *Xenopus* oocytes by beta-amyloid1-42 peptide. *J Mol Neurosci* 27:13-21.
- Lambert MP, Barlow AK, Chromy BA, Edwards C, Freed R, Liosatos M, Morgan TE, Rozovsky I, Trommer B, Viola KL, Wals P, Zhang C, Finch CE, Krafft GA, Klein WL (1998) Diffusible, nonfibrillar ligands derived from Abeta1-42 are potent central nervous system neurotoxins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:6448-6453.
- Lamprea MR, Garcia AM, Morato S (2010) Effects of reversible inactivation of the medial septum on rat exploratory behavior in the elevated plus-maze using a test-retest paradigm. *Behav Brain Res* 210:67-73.
- Langui D, Lachapelle F, Duyckaerts C (2007) [Animal models of neurodegenerative diseases]. *Med Sci (Paris)* 23:180-186.
- Laroche S, Jay TM, Thierry AM (1990) Long-term potentiation in the prefrontal cortex following stimulation of the hippocampal CA1/subicular region. *Neurosci Lett* 114:184-190.
- Laroche S, Davis S, Jay TM (2000) Plasticity at hippocampal to prefrontal cortex synapses: dual roles in working memory and consolidation. *Hippocampus* 10:438-446.
- Larson ME, Lesne SE (2012) Soluble Abeta oligomer production and toxicity. *J Neurochem* 120 Suppl 1:125-139.
- Lau A, Tymianski M (2010) Glutamate receptors, neurotoxicity and neurodegeneration. *Pflugers Arch* 460:525-542.
- Launer LJ, Ross GW, Petrovitch H, Masaki K, Foley D, White LR, Havlik RJ (2000) Midlife blood pressure and dementia: the Honolulu-Asia aging study. *Neurobiol Aging* 21:49-55.
- Lavenex P, Amaral DG (2000) Hippocampal-neocortical interaction: a hierarchy of associativity. *Hippocampus* 10:420-430.
- Lazo ND, Grant MA, Condrón MC, Rigby AC, Teplow DB (2005) On the nucleation of amyloid beta-protein monomer folding. *Protein Sci* 14:1581-1596.

- Lee I, Kesner RP (2002) Differential contribution of NMDA receptors in hippocampal subregions to spatial working memory. *Nat Neurosci* 5:162-168.
- Lee JE, Han PL (2013) An update of animal models of Alzheimer disease with a reevaluation of plaque depositions. *Exp Neurobiol* 22:84-95.
- Lee VM, Goedert M, Trojanowski JQ (2001) Neurodegenerative tauopathies. *Annu Rev Neurosci* 24:1121-1159.
- Lee MG, Chrobak JJ, Sik A, Wiley RG, Buzsaki G (1994) Hippocampal theta activity following selective lesion of the septal cholinergic system. *Neuroscience* 62:1033-1047.
- Lee KW, Lee SH, Kim H, Song JS, Yang SD, Paik SG, Han PL (2004) Progressive cognitive impairment and anxiety induction in the absence of plaque deposition in C57BL/6 inbred mice expressing transgenic amyloid precursor protein. *J Neurosci Res* 76:572-580.
- Lee MK, Slunt HH, Martin LJ, Thinakaran G, Kim G, Gandy SE, Seeger M, Koo E, Price DL, Sisodia SS (1996) Expression of presenilin 1 and 2 (PS1 and PS2) in human and murine tissues. *J Neurosci* 16:7513-7525.
- Lesne S, Koh MT, Kotilinek L, Kaye R, Glabe CG, Yang A, Gallagher M, Ashe KH (2006) A specific amyloid-beta protein assembly in the brain impairs memory. *Nature* 440:352-357.
- Levin ED, Simon BB (1998) Nicotinic acetylcholine involvement in cognitive function in animals. *Psychopharmacology (Berl)* 138:217-230.
- Levin ED, Bradley A, Addy N, Sigurani N (2002) Hippocampal alpha 7 and alpha 4 beta 2 nicotinic receptors and working memory. *Neuroscience* 109:757-765.
- Levin ED, Petro A, Rezvani AH, Pollard N, Christopher NC, Strauss M, Avery J, Nicholson J, Rose JE (2009) Nicotinic alpha7- or beta2-containing receptor knockout: effects on radial-arm maze learning and long-term nicotine consumption in mice. *Behav Brain Res* 196:207-213.
- Levy E, Carman MD, Fernandez-Madrid IJ, Power MD, Lieberburg I, van Duinen SG, Bots GT, Luyendijk W, Frangione B (1990) Mutation of the Alzheimer's disease amyloid gene in hereditary cerebral hemorrhage, Dutch type. *Science* 248:1124-1126.
- Levy-Lahad E, Wijsman EM, Nemens E, Anderson L, Goddard KA, Weber JL, Bird TD, Schellenberg GD (1995) A familial Alzheimer's disease locus on chromosome 1. *Science* 269:970-973.
- Lewis J, Dickson DW, Lin WL, Chisholm L, Corral A, Jones G, Yen SH, Sahara N, Skipper L, Yager D, Eckman C, Hardy J, Hutton M, McGowan E (2001) Enhanced neurofibrillary degeneration in transgenic mice expressing mutant tau and APP. *Science* 293:1487-1491.
- Li L, Darden TA, Bartolotti L, Kominos D, Pedersen LG (1999) An atomic model for the pleated beta-sheet structure of Abeta amyloid protofilaments. *Biophys J* 76:2871-2878.
- Li Y, Liu L, Kang J, Sheng JG, Barger SW, Mrak RE, Griffin WS (2000) Neuronal-glia interactions mediated by interleukin-1 enhance neuronal acetylcholinesterase activity and mRNA expression. *J Neurosci* 20:149-155.
- Li WZ, Li WP, Huang DK, Kan HW, Wang X, Wu WY, Yin YY, Yao YY (2012) Dexamethasone and Abeta(2)(5)-(3)(5) accelerate learning and memory impairments due to elevated amyloid precursor protein expression and neuronal apoptosis in 12-month male rats. *Behav Brain Res* 227:142-149.
- Lin H, Vicini S, Hsu FC, Doshi S, Takano H, Coulter DA, Lynch DR (2010) Axonal alpha7 nicotinic ACh receptors modulate presynaptic NMDA receptor expression and

- structural plasticity of glutamatergic presynaptic boutons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107:16661-16666.
- Lindner MD, Hogan JB, Hodges DB, Jr., Orie AF, Chen P, Corsa JA, Leet JE, Gillman KW, Rose GM, Jones KM, Gribkoff VK (2006) Donepezil primarily attenuates scopolamine-induced deficits in psychomotor function, with moderate effects on simple conditioning and attention, and small effects on working memory and spatial mapping. *Psychopharmacology (Berl)* 188:629-640.
- Lista S, Garaci FG, Ewers M, Teipel S, Zetterberg H, Blennow K, Hampel H (2014) CSF Abeta1-42 combined with neuroimaging biomarkers in the early detection, diagnosis and prediction of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 10:381-392.
- Liu Q, Kawai H, Berg DK (2001) beta -Amyloid peptide blocks the response of alpha 7-containing nicotinic receptors on hippocampal neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:4734-4739.
- Liu Q, Huang Y, Shen J, Steffensen S, Wu J (2012) Functional alpha7beta2 nicotinic acetylcholine receptors expressed in hippocampal interneurons exhibit high sensitivity to pathological level of amyloid beta peptides. *BMC Neurosci* 13:155.
- Liu Q, Xie X, Lukas RJ, St John PA, Wu J (2013) A novel nicotinic mechanism underlies beta-amyloid-induced neuronal hyperexcitation. *J Neurosci* 33:7253-7263.
- Liu Q, Xie X, Emadi S, Sierks MR, Wu J (2015) A novel nicotinic mechanism underlies beta-amyloid-induced neurotoxicity. *Neuropharmacology* 97:457-463.
- Liu Q, Huang Y, Xue F, Simard A, DeChon J, Li G, Zhang J, Lucero L, Wang M, Sierks M, Hu G, Chang Y, Lukas RJ, Wu J (2009) A novel nicotinic acetylcholine receptor subtype in basal forebrain cholinergic neurons with high sensitivity to amyloid peptides. *J Neurosci* 29:918-929.
- Lomakin A, Chung DS, Benedek GB, Kirschner DA, Teplow DB (1996) On the nucleation and growth of amyloid beta-protein fibrils: detection of nuclei and quantitation of rate constants. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:1125-1129.
- Lombardo S, Maskos U (2015) Role of the nicotinic acetylcholine receptor in Alzheimer's disease pathology and treatment. *Neuropharmacology* 96:255-262.
- Lopez-Hernandez G, Placzek AN, Thinschmidt JS, Lestage P, Trocme-Thibierge C, Morain P, Papke RL (2007) Partial agonist and neuromodulatory activity of S 24795 for alpha7 nAChR responses of hippocampal interneurons. *Neuropharmacology* 53:134-144.
- Luchsinger JA, Tang MX, Stern Y, Shea S, Mayeux R (2001) Diabetes mellitus and risk of Alzheimer's disease and dementia with stroke in a multiethnic cohort. *Am J Epidemiol* 154:635-641.
- Lue LF, Kuo YM, Roher AE, Brachova L, Shen Y, Sue L, Beach T, Kurth JH, Rydel RE, Rogers J (1999) Soluble amyloid beta peptide concentration as a predictor of synaptic change in Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 155:853-862.
- Lustbader JW et al. (2004) ABAD directly links Abeta to mitochondrial toxicity in Alzheimer's disease. *Science* 304:448-452.
- Lyketsos CG, Steinberg M, Tschanz JT, Norton MC, Steffens DC, Breitner JC (2000) Mental and behavioral disturbances in dementia: findings from the Cache County Study on Memory in Aging. *Am J Psychiatry* 157:708-714.
- Lyketsos CG, Lopez O, Jones B, Fitzpatrick AL, Breitner J, DeKosky S (2002) Prevalence of neuropsychiatric symptoms in dementia and mild cognitive impairment: results from the cardiovascular health study. *JAMA* 288:1475-1483.



## M

- Ma QL, Harris-White ME, Ubuda OJ, Simmons M, Beech W, Lim GP, Teter B, Frautschy SA, Cole GM (2007) Evidence of Abeta- and transgene-dependent defects in ERK-CREB signaling in Alzheimer's models. *J Neurochem* 103:1594-1607.
- Ma QL, Yang F, Rosario ER, Ubuda OJ, Beech W, Gant DJ, Chen PP, Hudspeth B, Chen C, Zhao Y, Vinters HV, Frautschy SA, Cole GM (2009) Beta-amyloid oligomers induce phosphorylation of tau and inactivation of insulin receptor substrate via c-Jun N-terminal kinase signaling: suppression by omega-3 fatty acids and curcumin. *J Neurosci* 29:9078-9089.
- Majlessi N, Choopani S, Kamalinejad M, Azizi Z (2012) Amelioration of amyloid beta-induced cognitive deficits by *Zataria multiflora* Boiss. essential oil in a rat model of Alzheimer's disease. *CNS Neurosci Ther* 18:295-301.
- Malenka RC, Nicoll RA (1999) Long-term potentiation--a decade of progress? *Science* 285:1870-1874.
- Malenka RC, Bear MF (2004) LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron* 44:5-21.
- Malleret G, Alarcon JM, Martel G, Takizawa S, Vronskaya S, Yin D, Chen IZ, Kandel ER, Shumyatsky GP (2010) Bidirectional regulation of hippocampal long-term synaptic plasticity and its influence on opposing forms of memory. *J Neurosci* 30:3813-3825.
- Mamad O, McNamara HM, Reilly RB, Tsanov M (2015) Medial septum regulates the hippocampal spatial representation. *Front Behav Neurosci* 9:166.
- Mandelkow EM, Stamer K, Vogel R, Thies E, Mandelkow E (2003) Clogging of axons by tau, inhibition of axonal traffic and starvation of synapses. *Neurobiol Aging* 24:1079-1085.
- Mann EO, Greenfield SA (2003) Novel modulatory mechanisms revealed by the sustained application of nicotine in the guinea-pig hippocampus in vitro. *J Physiol* 551:539-550.
- Mansvelder HD, Mertz M, Role LW (2009) Nicotinic modulation of synaptic transmission and plasticity in cortico-limbic circuits. *Semin Cell Dev Biol* 20:432-440.
- Marighetto A, Micheau J, Jaffard R (1993) Relationships between testing-induced alterations of hippocampal cholinergic activity and memory performance on two spatial tasks in mice. *Behav Brain Res* 56:133-144.
- Marighetto A, Valerio S, Desmedt A, Philippin JN, Trocme-Thibierge C, Morain P (2008) Comparative effects of the alpha7 nicotinic partial agonist, S 24795, and the cholinesterase inhibitor, donepezil, against aging-related deficits in declarative and working memory in mice. *Psychopharmacology (Berl)* 197:499-508.
- Marti Barros D, Ramirez MR, Dos Reis EA, Izquierdo I (2004) Participation of hippocampal nicotinic receptors in acquisition, consolidation and retrieval of memory for one trial inhibitory avoidance in rats. *Neuroscience* 126:651-656.
- Martin SJ, Clark RE (2007) The rodent hippocampus and spatial memory: from synapses to systems. *Cell Mol Life Sci* 64:401-431.
- Martin SJ, Grimwood PD, Morris RG (2000) Synaptic plasticity and memory: an evaluation of the hypothesis. *Annu Rev Neurosci* 23:649-711.
- Martin SE, de Fiebre NE, de Fiebre CM (2004) The alpha7 nicotinic acetylcholine receptor-selective antagonist, methyllycaconitine, partially protects against beta-amyloid1-42 toxicity in primary neuron-enriched cultures. *Brain Res* 1022:254-256.
- Maruki K, Izaki Y, Hori K, Nomura M, Yamauchi T (2001) Effects of rat ventral and dorsal hippocampus temporal inactivation on delayed alternation task. *Brain Res* 895:273-276.

- Masliah E, Hansen L, Adame A, Crews L, Bard F, Lee C, Seubert P, Games D, Kirby L, Schenk D (2005) Abeta vaccination effects on plaque pathology in the absence of encephalitis in Alzheimer disease. *Neurology* 64:129-131.
- Masters CL, Simms G, Weinman NA, Multhaup G, McDonald BL, Beyreuther K (1985) Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Down syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 82:4245-4249.
- Mastrangelo IA, Ahmed M, Sato T, Liu W, Wang C, Hough P, Smith SO (2006) High-resolution atomic force microscopy of soluble Abeta42 oligomers. *J Mol Biol* 358:106-119.
- Matsunaga S, Kishi T, Iwata N (2015) Memantine monotherapy for Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 10:e0123289.
- Mattson N, Insel PS, Nosheny R, Tosun D, Trojanowski JQ, Shaw LM (2014) Emerging  $\beta$ -amyloid pathology and accelerated cortical atrophy. *JAMA Neurol* 71: 725-734.
- McGehee DS, Heath MJ, Gelber S, Devay P, Role LW (1995) Nicotine enhancement of fast excitatory synaptic transmission in CNS by presynaptic receptors. *Science* 269:1692-1696.
- McGregor A, Hayward AJ, Pearce JM, Good MA (2004) Hippocampal lesions disrupt navigation based on the shape of the environment. *Behav Neurosci* 118:1011-1021.
- McIntyre CK, Marriott LK, Gold PE (2003) Patterns of brain acetylcholine release predict individual differences in preferred learning strategies in rats. *Neurobiol Learn Mem* 79:177-183.
- McLean CA, Cherny RA, Fraser FW, Fuller SJ, Smith MJ, Beyreuther K, Bush AI, Masters CL (1999) Soluble pool of Abeta amyloid as a determinant of severity of neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 46:860-866.
- McNay EC, Canal CE, Sherwin RS, Gold PE (2006) Modulation of memory with septal injections of morphine and glucose: effects on extracellular glucose levels in the hippocampus. *Physiol Behav* 87:298-303.
- Mesulam MM, Mufson EJ, Wainer BH, Levey AI (1983) Central cholinergic pathways in the rat: an overview based on an alternative nomenclature (Ch1-Ch6). *Neuroscience* 10:1185-1201.
- Meyer EM, Tay ET, Zoltewicz JA, Meyers C, King MA, Papke RL, De Fiebre CM (1998) Neuroprotective and memory-related actions of novel alpha-7 nicotinic agents with different mixed agonist/antagonist properties. *J Pharmacol Exp Ther* 284:1026-1032.
- Minogue AM, Stubbs AK, Frigerio CS, Boland B, Fadeeva JV, Tang J, Selkoe DJ, Walsh DM (2009) gamma-secretase processing of APLP1 leads to the production of a p3-like peptide that does not aggregate and is not toxic to neurons. *Brain Res* 1262:89-99.
- Mizumori SJ, Perez GM, Alvarado MC, Barnes CA, McNaughton BL (1990) Reversible inactivation of the medial septum differentially affects two forms of learning in rats. *Brain Res* 528:12-20.
- Moechars D, Dewachter I, Lorent K, Reverse D, Baekelandt V, Naidu A, Tesseur I, Spittaels K, Haute CV, Checler F, Godaux E, Cordell B, Van Leuven F (1999) Early phenotypic changes in transgenic mice that overexpress different mutants of amyloid precursor protein in brain. *J Biol Chem* 274:6483-6492.
- Molinari EJ, Delbono O, Messi ML, Renganathan M, Arneric SP, Sullivan JP, Gopalakrishnan M (1998) Up-regulation of human alpha7 nicotinic receptors by chronic treatment with activator and antagonist ligands. *Eur J Pharmacol* 347:131-139.
- Moretti M, Zoli M, George AA, Lukas RJ, Pistillo F, Maskos U, Whiteaker P, Gotti C (2014) The novel alpha7beta2-nicotinic acetylcholine receptor subtype is expressed in

- mouse and human basal forebrain: biochemical and pharmacological characterization. *Mol Pharmacol* 86:306-317.
- Morimoto K, Yoshimi K, Tonohiro T, Yamada N, Oda T, Kaneko I (1998) Co-injection of beta-amyloid with ibotenic acid induces synergistic loss of rat hippocampal neurons. *Neuroscience* 84:479-487.
- Morris RG, Baddeley AD (1988) Primary and working memory functioning in Alzheimer-type dementia. *J Clin Exp Neuropsychol* 10:279-296.
- Morris RG, Garrud P, Rawlins JN, O'Keefe J (1982) Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature* 297:681-683.
- Moser E, Moser MB, Andersen P (1993) Spatial learning impairment parallels the magnitude of dorsal hippocampal lesions, but is hardly present following ventral lesions. *J Neurosci* 13:3916-3925.
- Mucke L, Selkoe DJ (2012) Neurotoxicity of amyloid beta-protein: synaptic and network dysfunction. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2:a006338.
- Mucke L, Masliah E, Yu GQ, Mallory M, Rockenstein EM, Tatsuno G, Hu K, Kholodenko D, Johnson-Wood K, McConlogue L (2000) High-level neuronal expression of abeta 1-42 in wild-type human amyloid protein precursor transgenic mice: synaptotoxicity without plaque formation. *J Neurosci* 20:4050-4058.
- Musiek ES, Holtzman DM (2015) Three dimensions of the amyloid hypothesis: time, space and 'wingmen'. *Nat Neurosci* 18:800-806.

## N-O

- Nagai T, Kimura H, Maeda T, McGeer PL, Peng F, McGeer EG (1982) Cholinergic projections from the basal forebrain of rat to the amygdala. *J Neurosci* 2:513-520.
- Nagai T, Kamei H, Dohniwa M, Takayanagi M, Suzuki M, Matsuya T, Nabeshima T, Takuma K, Yamada K (2006) Involvement of hippocampal extracellular signal-regulated kinase 1/2 in spatial working memory in rats. *Neuroreport* 17:1453-1457.
- Nagele RG, D'Andrea MR, Anderson WJ, Wang HY (2002) Intracellular accumulation of beta-amyloid(1-42) in neurons is facilitated by the alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor in Alzheimer's disease. *Neuroscience* 110:199-211.
- Nakamura S, Murayama N, Noshita T, Annoura H, Ohno T (2001) Progressive brain dysfunction following intracerebroventricular infusion of beta(1-42)-amyloid peptide. *Brain Res* 912:128-136.
- Nicholls RE, Alarcon JM, Malleret G, Carroll RC, Grody M, Vronskaya S, Kandel ER (2008) Transgenic mice lacking NMDAR-dependent LTD exhibit deficits in behavioral flexibility. *Neuron* 58:104-117.
- Niewiadomska G, Baksalerska-Pazera M, Riedel G (2009) The septo-hippocampal system, learning and recovery of function. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 33:791-805.
- Nilsson LN, Arendash GW, Leighty RE, Costa DA, Low MA, Garcia MF, Cracciolo JR, Rojiani A, Wu X, Bales KR, Paul SM, Potter H (2004) Cognitive impairment in PDAPP mice depends on ApoE and ACT-catalyzed amyloid formation. *Neurobiol Aging* 25:1153-1167.
- Nisbet RM, Polanco JC, Ittner LM, Gotz J (2015) Tau aggregation and its interplay with amyloid-beta. *Acta Neuropathol* 129:207-220.
- Noel A, Poitras I, Julien J, Petry FR, Morin F, Charron J, Planel E (2015) ERK (MAPK) does not phosphorylate tau under physiological conditions in vivo or in vitro. *Neurobiol Aging* 36:901-902.

- Nordberg A (1999) PET studies and cholinergic therapy in Alzheimer's disease. *Rev Neurol (Paris)* 155 Suppl 4:S53-63.
- Nordberg A (2001) Nicotinic receptor abnormalities of Alzheimer's disease: therapeutic implications. *Biol Psychiatry* 49:200-210.
- Nordberg A (2008) Amyloid imaging in Alzheimer's disease. *Neuropsychologia* 46:1636-1641.
- Nordberg A, Lundqvist H, Hartvig P, Andersson J, Johansson M, Hellstrom-Lindahl E, Langstrom B (1997) Imaging of nicotinic and muscarinic receptors in Alzheimer's disease: effect of tacrine treatment. *Dement Geriatr Cogn Disord* 8:78-84.
- Oakley H, Cole SL, Logan S, Maus E, Shao P, Craft J, Guillozet-Bongaarts A, Ohno M, Disterhoft J, Van Eldik L, Berry R, Vassar R (2006) Intraneuronal beta-amyloid aggregates, neurodegeneration, and neuron loss in transgenic mice with five familial Alzheimer's disease mutations: potential factors in amyloid plaque formation. *J Neurosci* 26:10129-10140.
- Oddo S, Caccamo A, Kitazawa M, Tseng BP, LaFerla FM (2003) Amyloid deposition precedes tangle formation in a triple transgenic model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 24:1063-1070.
- Oddo S, Caccamo A, Green KN, Liang K, Tran L, Chen Y, Leslie FM, LaFerla FM (2005) Chronic nicotine administration exacerbates tau pathology in a transgenic model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:3046-3051.
- Ohno M, Yamamoto T, Watanabe S (1993) Blockade of hippocampal nicotinic receptors impairs working memory but not reference memory in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 45:89-93.
- Ohno M, Sametsky EA, Younkin LH, Oakley H, Younkin SG, Citron M, Vassar R, Disterhoft JF (2004) BACE1 deficiency rescues memory deficits and cholinergic dysfunction in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neuron* 41:27-33.
- Okada K, Okaichi H (2010) Functional cooperation between the hippocampal subregions and the medial septum in unreinforced and reinforced spatial memory tasks. *Behav Brain Res* 209:295-304.
- Olincy A, Harris JG, Johnson LL, Pender V, Kongs S, Allensworth D, Ellis J, Zerbe GO, Leonard S, Stevens KE, Stevens JO, Martin L, Adler LE, Soti F, Kem WR, Freedman R (2006) Proof-of-concept trial of an alpha7 nicotinic agonist in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 63:630-638.
- Olson L, Nordberg A, von Holst H, Backman L, Ebendal T, Alafuzoff I, Amberla K, Hartvig P, Herlitz A, Lilja A, et al. (1992) Nerve growth factor affects 11C-nicotine binding, blood flow, EEG, and verbal episodic memory in an Alzheimer patient (case report). *J Neural Transm Park Dis Dement Sect* 4:79-95.
- Ono K, Condron MM, Teplov DB (2009) Structure-neurotoxicity relationships of amyloid beta-protein oligomers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:14745-14750.
- O'Nuallain B, Williams AD, Westmark P, Wetzel R (2004) Seeding specificity in amyloid growth induced by heterologous fibrils. *J Biol Chem* 279:17490-17499.
- Orr-Urtreger A, Goldner FM, Saeki M, Lorenzo I, Goldberg L, De Biasi M, Dani JA, Patrick JW, Beaudet AL (1997) Mice deficient in the alpha7 neuronal nicotinic acetylcholine receptor lack alpha-bungarotoxin binding sites and hippocampal fast nicotinic currents. *J Neurosci* 17:9165-9171.
- Ovsepian SV (2006) Enhancement of the synchronized firing of CA1 pyramidal cells by medial septum preconditioning: time-dependent involvement of muscarinic cholinergic receptors and GABAB receptors. *Neurosci Lett* 393:1-6.

Oz M, Lorke DE, Yang KH, Petroianu G (2013) On the interaction of beta-amyloid peptides and alpha7-nicotinic acetylcholine receptors in Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* 10:618-630.

## P

- Pakaski M, Kasa P (2003) Role of acetylcholinesterase inhibitors in the metabolism of amyloid precursor protein. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord* 2:163-171.
- Pakaski M, Kalman J (2008) Interactions between the amyloid and cholinergic mechanisms in Alzheimer's disease. *Neurochem Int* 53:103-111.
- Pandya A, Yakel JL (2011) Allosteric modulator Desformylflustrabromine relieves the inhibition of alpha2beta2 and alpha4beta2 nicotinic acetylcholine receptors by beta-amyloid(1-42) peptide. *J Mol Neurosci* 45:42-47.
- Parra MA, Abrahams S, Fabi K, Logie R, Luzzi S, Della Sala S (2009) Short-term memory binding deficits in Alzheimer's disease. *Brain* 132:1057-1066.
- Parra MA, Abrahams S, Logie RH, Mendez LG, Lopera F, Della Sala S (2010) Visual short-term memory binding deficits in familial Alzheimer's disease. *Brain* 133:2702-2713.
- Parri HR, Hernandez CM, Dineley KT (2011) Research update: Alpha7 nicotinic acetylcholine receptor mechanisms in Alzheimer's disease. *Biochem Pharmacol* 82:931-942.
- Parvathy S, Hussain I, Karran EH, Turner AJ, Hooper NM (1999) Cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by alpha-secretase occurs at the surface of neuronal cells. *Biochemistry* 38:9728-9734.
- Pascual M, Perez-Sust P, Soriano E (2004) The GABAergic septohippocampal pathway in control and reeler mice: target specificity and termination onto Reelin-expressing interneurons. *Mol Cell Neurosci* 25:679-691.
- Pearson-Leary J, McNay EC (2012) Intrahippocampal administration of amyloid-beta(1-42) oligomers acutely impairs spatial working memory, insulin signaling, and hippocampal metabolism. *J Alzheimers Dis* 30:413-422.
- Pepeu G, Blandina P (1998) The acetylcholine, GABA, glutamate triangle in the rat forebrain. *J Physiol Paris* 92:351-355.
- Pepeu G, Giovannini MG (2009) Cholinesterase inhibitors and beyond. *Curr Alzheimer Res* 6:86-96.
- Pepeu G, Giovannini MG (2010) Cholinesterase inhibitors and memory. *Chem Biol Interact* 187:403-408.
- Perry RJ, Hodges JR (2000) Fate of patients with questionable (very mild) Alzheimer's disease: longitudinal profiles of individual subjects' decline. *Dement Geriatr Cogn Disord* 11:342-349.
- Perry EK, Perry RH, Blessed G, Tomlinson BE (1978) Changes in brain cholinesterases in senile dementia of Alzheimer type. *Neuropathol Appl Neurobiol* 4:273-277.
- Pertsov Y, Heider M, Liang Y, Husain M (2015) Effects of healthy ageing on precision and binding of object location in visual short term memory. *Psychol Aging* 30:26-35.
- Petersen RC, Smith GE, Waring SC, Ivnik RJ, Tangalos EG, Kokmen E (1999) Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Arch Neurol* 56:303-308.
- Petersen RC, Doody R, Kurz A, Mohs RC, Morris JC, Rabins PV, Ritchie K, Rossor M, Thal L, Winblad B (2001) Current concepts in mild cognitive impairment. *Arch Neurol* 58:1985-1992.

- Pettit DL, Shao Z, Yakel JL (2001) beta-Amyloid(1-42) peptide directly modulates nicotinic receptors in the rat hippocampal slice. *J Neurosci* 21:RC120.
- Phelps EA, LeDoux JE (2005) Contributions of the amygdala to emotion processing: from animal models to human behavior. *Neuron* 48:175-187.
- Picciotto MR, Zoli M (2002) Nicotinic receptors in aging and dementia. *J Neurobiol* 53:641-655.
- Picciotto MR, Higley MJ, Mineur YS (2012) Acetylcholine as a neuromodulator: cholinergic signaling shapes nervous system function and behavior. *Neuron* 76:116-129.
- Pillai JA, Bonner-Jackson A, Walker E, Mourany L, Cummings JL (2014) Higher working memory predicts slower functional decline in autopsy-confirmed Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 38:224-233.
- Pillot T, Drouet B, Queille S, Labeur C, Vandekerckhove J, Rosseneu M, Pincon-Raymond M, Chambaz J (1999) The nonfibrillar amyloid beta-peptide induces apoptotic neuronal cell death: involvement of its C-terminal fusogenic domain. *J Neurochem* 73:1626-1634.
- Plakke B, Ng CW, Poremba A (2008) Scopolamine impairs auditory delayed matching-to-sample performance in monkeys. *Neurosci Lett* 438:126-130.
- Pomara N, Singh R, Deptula D, Chou JC, Schwartz MB, LeWitt PA (1992) Glutamate and other CSF amino acids in Alzheimer's disease. *Am J Psychiatry* 149:251-254.
- Putchá P, Danzer KM, Kranich LR, Scott A, Silinski M, Mabbett S, Hicks CD, Veal JM, Steed PM, Hyman BT, McLean PJ (2010) Brain-permeable small-molecule inhibitors of Hsp90 prevent alpha-synuclein oligomer formation and rescue alpha-synuclein-induced toxicity. *J Pharmacol Exp Ther* 332:849-857.
- Puzzo D, Privitera L, Leznik E, Fa M, Staniszewski A, Palmeri A, Arancio O (2008) Picomolar amyloid-beta positively modulates synaptic plasticity and memory in hippocampus. *J Neurosci* 28:14537-14545.

## Q-R

- Querfurth HW, LaFerla FM (2010) Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 362:329-344.
- Quick MW, Lester RA (2002) Desensitization of neuronal nicotinic receptors. *J Neurobiol* 53:457-478.
- Rabinovici GD, Jagust WJ (2009) Amyloid imaging in aging and dementia: testing the amyloid hypothesis in vivo. *Behav Neurol* 21:117-128.
- Racchi M, Mazzucchelli M, Lenzken SC, Porrello E, Lanni C, Govoni S (2005) Role of acetylcholinesterase inhibitors in the regulation of amyloid beta precursor protein (AbetaPP) metabolism. *Chem Biol Interact* 157-158:335-338.
- Ramin M, Azizi P, Motamedi F, Haghparast A, Khodagholi F (2011) Inhibition of JNK phosphorylation reverses memory deficit induced by beta-amyloid (1-42) associated with decrease of apoptotic factors. *Behav Brain Res* 217:424-431.
- Ravaglia G, Forti P, Maioli F, Martelli M, Servadei L, Brunetti N, Pantieri G, Mariani E (2006) Conversion of mild cognitive impairment to dementia: predictive role of mild cognitive impairment subtypes and vascular risk factors. *Dement Geriatr Cogn Disord* 21:51-58.
- Redwine JM, Kosofsky B, Jacobs RE, Games D, Reilly JF, Morrison JH, Young WG, Bloom FE (2003) Dentate gyrus volume is reduced before onset of plaque formation in PDAPP mice: a magnetic resonance microscopy and stereologic analysis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:1381-1386.

- Refolo LM, Wittenberg IS, Friedrich VL, Jr., Robakis NK (1991) The Alzheimer amyloid precursor is associated with the detergent-insoluble cytoskeleton. *J Neurosci* 11:3888-3897.
- Reisberg B, Doody R, Stoffler A, Schmitt F, Ferris S, Mobius HJ (2003) Memantine in moderate-to-severe Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 348:1333-1341.
- Reitz C, Mayeux R (2014) Alzheimer disease: epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers. *Biochem Pharmacol* 88:640-651.
- Ren K, King MA, Liu J, Siemann J, Altman M, Meyers C, Hughes JA, Meyer EM (2007) The  $\alpha 7$  nicotinic receptor agonist 4OH-GTS-21 protects axotomized septohippocampal cholinergic neurons in wild type but not amyloid-overexpressing transgenic mice. *Neuroscience* 148:230-237.
- Resnick SM, Sojkova J, Zhou Y, An Y, Ye W, Holt DP, Dannals RF, Mathis CA, Klunk WE, Ferrucci L, Kraut MA, Wong DF (2010) Longitudinal cognitive decline is associated with fibrillar amyloid-beta measured by [ $^{11}\text{C}$ ]PiB. *Neurology* 74:807-815.
- Rezvani AH, Levin ED (2001) Cognitive effects of nicotine. *Biol Psychiatry* 49:258-267.
- Riedel G, Micheau J, Lam AG, Roloff EL, Martin SJ, Bridge H, de Hoz L, Poeschel B, McCulloch J, Morris RG (1999) Reversible neural inactivation reveals hippocampal participation in several memory processes. *Nat Neurosci* 2:898-905.
- Roberson ED, Searce-Levie K, Palop JJ, Yan F, Cheng IH, Wu T, Gerstein H, Yu GQ, Mucke L (2007) Reducing endogenous tau ameliorates amyloid beta-induced deficits in an Alzheimer's disease mouse model. *Science* 316:750-754.
- Robert P, Onyike CU, Leentjens AF, Dujardin K, Aalten P, Starkstein S, Verhey FR, Yessavage J, Clement JP, Drapier D, Bayle F, Benoit M, Boyer P, Lorca PM, Thibaut F, Gauthier S, Grossberg G, Vellas B, Byrne J (2009) Proposed diagnostic criteria for apathy in Alzheimer's disease and other neuropsychiatric disorders. *Eur Psychiatry* 24:98-104.
- Rogaev EI, Sherrington R, Rogaeva EA, Levesque G, Ikeda M, Liang Y, Chi H, Lin C, Holman K, Tsuda T, et al. (1995) Familial Alzheimer's disease in kindreds with missense mutations in a gene on chromosome 1 related to the Alzheimer's disease type 3 gene. *Nature* 376:775-778.
- Roland JJ, Savage LM (2009) The role of cholinergic and GABAergic medial septal/diagonal band cell populations in the emergence of diencephalic amnesia. *Neuroscience* 160:32-41.
- Role LW, Berg DK (1996) Nicotinic receptors in the development and modulation of CNS synapses. *Neuron* 16:1077-1085.
- Rolls ET, Kesner RP (2006) A computational theory of hippocampal function, and empirical tests of the theory. *Prog Neurobiol* 79:1-48.
- Rosenberg PB, Nowrangi MA, Lyketsos CG (2015) Neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease: What might be associated brain circuits? *Mol Aspects Med*.
- Rossetti ZL, Carboni S (2005) Noradrenaline and dopamine elevations in the rat prefrontal cortex in spatial working memory. *J Neurosci* 25:2322-2329.
- Russo P, Del Bufalo A, Frustaci A, Fini M, Cesario A (2014) Beyond acetylcholinesterase inhibitors for treating Alzheimer's disease:  $\alpha 7$ -nAChR agonists in human clinical trials. *Curr Pharm Des* 20:6014-6021.
- Rutz S, Riegert C, Rothmaier AK, Jackisch R (2007) Presynaptic modulation of 5-HT release in the rat septal region. *Neuroscience* 146:643-658.
- Rye DB, Wainer BH, Mesulam MM, Mufson EJ, Saper CB (1984) Cortical projections arising from the basal forebrain: a study of cholinergic and noncholinergic components employing combined retrograde tracing and immunohistochemical localization of choline acetyltransferase. *Neuroscience* 13:627-643.

Ryman DC et al. (2014) Symptom onset in autosomal dominant Alzheimer disease: a systematic review and meta-analysis. *Neurology* 83:253-260.

## S

- Sabuncu MR, Desikan RS, Sepulcre J, Yeo BT, Liu H, Schmansky NJ, Reuter M, Weiner MW, Buckner RL, Sperling RA, Fischl B (2011) The dynamics of cortical and hippocampal atrophy in Alzheimer disease. *Arch Neurol* 68:1040-1048.
- Samakashvili S, Ibanez C, Simo C, Gil-Bea FJ, Winblad B, Cedazo-Minguez A, Cifuentes A (2011) Analysis of chiral amino acids in cerebrospinal fluid samples linked to different stages of Alzheimer disease. *Electrophoresis* 32:2757-2764.
- Saper CB (1984) Organization of cerebral cortical afferent systems in the rat. II. Magnocellular basal nucleus. *J Comp Neurol* 222:313-342.
- Sarazin M, Berr C, De Rotrou J, Fabrigoule C, Pasquier F, Legrain S, Michel B, Puel M, Volteau M, Touchon J, Verny M, Dubois B (2007) Amnestic syndrome of the medial temporal type identifies prodromal AD: a longitudinal study. *Neurology* 69:1859-1867.
- Sava S, Markus EJ (2008) Activation of the medial septum reverses age-related hippocampal encoding deficits: a place field analysis. *J Neurosci* 28:1841-1853.
- Savage UC, Faust WB, Lambert P, Moerschbaecher JM (1996) Effects of scopolamine on learning and memory in monkeys. *Psychopharmacology (Berl)* 123:9-14.
- Savage MJ, Lin YG, Ciallella JR, Flood DG, Scott RW (2002) Activation of c-Jun N-terminal kinase and p38 in an Alzheimer's disease model is associated with amyloid deposition. *J Neurosci* 22:3376-3385.
- Sberna G, Saez-Valero J, Beyreuther K, Masters CL, Small DH (1997) The amyloid beta-protein of Alzheimer's disease increases acetylcholinesterase expression by increasing intracellular calcium in embryonal carcinoma P19 cells. *J Neurochem* 69:1177-1184.
- Sberna G, Saez-Valero J, Li QX, Czech C, Beyreuther K, Masters CL, McLean CA, Small DH (1998) Acetylcholinesterase is increased in the brains of transgenic mice expressing the C-terminal fragment (CT100) of the beta-amyloid protein precursor of Alzheimer's disease. *J Neurochem* 71:723-731.
- Scahill RI, Schott JM, Stevens JM, Rossor MN, Fox NC (2002) Mapping the evolution of regional atrophy in Alzheimer's disease: unbiased analysis of fluid-registered serial MRI. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:4703-4707.
- Schliebs R, Arendt T (2006) The significance of the cholinergic system in the brain during aging and in Alzheimer's disease. *J Neural Transm* 113:1625-1644.
- Schliebs R, Arendt T (2011) The cholinergic system in aging and neuronal degeneration. *Behav Brain Res* 221:555-563.
- Schliebs R, Rossner S, Bigl V (1996) Immunolesion by 192IgG-saporin of rat basal forebrain cholinergic system: a useful tool to produce cortical cholinergic dysfunction. *Prog Brain Res* 109:253-264.
- Seguela P, Wadiche J, Dineley-Miller K, Dani JA, Patrick JW (1993) Molecular cloning, functional properties, and distribution of rat brain alpha 7: a nicotinic cation channel highly permeable to calcium. *J Neurosci* 13:596-604.
- Selkoe DJ (2002) Alzheimer's disease is a synaptic failure. *Science* 298:789-791.
- Selkoe DJ (2011) Resolving controversies on the path to Alzheimer's therapeutics. *Nat Med* 17:1060-1065.



- Sengupta P, Garai K, Sahoo B, Shi Y, Callaway DJ, Maiti S (2003) The amyloid beta peptide (A $\beta$ (1-40)) is thermodynamically soluble at physiological concentrations. *Biochemistry* 42:10506-10513.
- Serino S, Cipresso P, Morganti F, Riva G (2014) The role of egocentric and allocentric abilities in Alzheimer's disease: a systematic review. *Ageing Res Rev* 16:32-44.
- Serrano-Pozo A, Frosch MP, Masliah E, Hyman BT (2011) Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med* 1:a006189.
- Seubert P, Oltersdorf T, Lee MG, Barbour R, Blomquist C, Davis DL, Bryant K, Fritz LC, Galasko D, Thal LJ, et al. (1993) Secretion of beta-amyloid precursor protein cleaved at the amino terminus of the beta-amyloid peptide. *Nature* 361:260-263.
- Shah S, Lee SF, Tabuchi K, Hao YH, Yu C, LaPlant Q, Ball H, Dann CE, 3rd, Sudhof T, Yu G (2005) Nicastrin functions as a gamma-secretase-substrate receptor. *Cell* 122:435-447.
- Shankar GM, Bloodgood BL, Townsend M, Walsh DM, Selkoe DJ, Sabatini BL (2007) Natural oligomers of the Alzheimer amyloid-beta protein induce reversible synapse loss by modulating an NMDA-type glutamate receptor-dependent signaling pathway. *J Neurosci* 27:2866-2875.
- Shankar GM, Li S, Mehta TH, Garcia-Munoz A, Shepardson NE, Smith I, Brett FM, Farrell MA, Rowan MJ, Lemere CA, Regan CM, Walsh DM, Sabatini BL, Selkoe DJ (2008) Amyloid-beta protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory. *Nat Med* 14:837-842.
- Shepherd C, McCann H, Halliday GM (2009) Variations in the neuropathology of familial Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol* 118:37-52.
- Sherman KA, Kuster JE, Dean RL, Bartus RT, Friedman E (1981) Presynaptic cholinergic mechanisms in brain of aged rats with memory impairments. *Neurobiol Aging* 2:99-104.
- Sherrington R et al. (1995) Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature* 375:754-760.
- Shim SB, Lee SH, Chae KR, Kim CK, Hwang DY, Kim BG, Jee SW, Sin JS, Bae CJ, Lee BC, Lee HH, Kim YK (2008) Nicotine leads to improvements in behavioral impairment and an increase in the nicotine acetylcholine receptor in transgenic mice. *Neurochem Res* 33:1783-1788.
- Shukla V, Zheng YL, Mishra SK, Amin ND, Steiner J, Grant P, Kesavapany S, Pant HC (2013) A truncated peptide from p35, a Cdk5 activator, prevents Alzheimer's disease phenotypes in model mice. *FASEB J* 27:174-186.
- Sisodia SS, Price DL (1995) Role of the beta-amyloid protein in Alzheimer's disease. *FASEB J* 9:366-370.
- Sjoberck M, Englund E (2001) Alzheimer's disease and the cerebellum: a morphologic study on neuronal and glial changes. *Dement Geriatr Cogn Disord* 12:211-218.
- Snyder EM, Nong Y, Almeida CG, Paul S, Moran T, Choi EY, Nairn AC, Salter MW, Lombroso PJ, Gouras GK, Greengard P (2005) Regulation of NMDA receptor trafficking by amyloid-beta. *Nat Neurosci* 8:1051-1058.
- Soderman A, Thomsen MS, Hansen HH, Nielsen EO, Jensen MS, West MJ, Mikkelsen JD (2008) The nicotinic alpha7 acetylcholine receptor agonist ssr180711 is unable to activate limbic neurons in mice overexpressing human amyloid-beta1-42. *Brain Res* 1227:240-247.
- Spellman T, Rigotti M, Ahmari SE, Fusi S, Gogos JA, Gordon JA (2015) Hippocampal-prefrontal input supports spatial encoding in working memory. *Nature* 522:309-314.

- Sperling RA, Dickerson BC, Pihlajamaki M, Vannini P, LaViolette PS, Vitolo OV, Hedden T, Becker JA, Rentz DM, Selkoe DJ, Johnson KA (2010) Functional alterations in memory networks in early Alzheimer's disease. *Neuromolecular Med* 12:27-43.
- Sperling R, Greve D, Dale A, Killiany R, Holmes J, Rosas HD, Cocchiarella A, Firth P, Rosen B, Lake S, Lange N, Routledge C, Albert M (2002) Functional MRI detection of pharmacologically induced memory impairment. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:455-460.
- St George-Hyslop PH, Tanzi RE, Polinsky RJ, Haines JL, Nee L, Watkins PC, Myers RH, Feldman RG, Pollen D, Drachman D, et al. (1987) The genetic defect causing familial Alzheimer's disease maps on chromosome 21. *Science* 235:885-890.
- Stanciu M, Wang Y, Kentor R, Burke N, Watkins S, Kress G, Reynolds I, Klann E, Angiolieri MR, Johnson JW, DeFranco DB (2000) Persistent activation of ERK contributes to glutamate-induced oxidative toxicity in a neuronal cell line and primary cortical neuron cultures. *J Biol Chem* 275:12200-12206.
- Stanley EM, Fadel J (2012) Aging-related deficits in orexin/hypocretin modulation of the septohippocampal cholinergic system. *Synapse* 66:445-452.
- Steele RJ, Morris RG (1999) Delay-dependent impairment of a matching-to-place task with chronic and intrahippocampal infusion of the NMDA-antagonist D-AP5. *Hippocampus* 9:118-136.
- Steinberg M, Shao H, Zandi P, Lyketsos CG, Welsh-Bohmer KA, Norton MC (2008) Point and 5-year period prevalence of neuropsychiatric symptoms in dementia: the Cache County Study. *Int J Geriatr Psychiatry* 23: 170-177.
- Stevens LM, Brown RE (2015) Reference and working memory deficits in the 3xTg-AD mouse between 2 and 15-months of age: a cross-sectional study. *Behav Brain Res* 278:496-505.
- Stine WB, Jr., Dahlgren KN, Krafft GA, LaDu MJ (2003) In vitro characterization of conditions for amyloid-beta peptide oligomerization and fibrillogenesis. *J Biol Chem* 278:11612-11622.
- Stokin GB, Lillo C, Falzone TL, Brusch RG, Rockenstein E, Mount SL, Raman R, Davies P, Masliah E, Williams DS, Goldstein LS (2005) Axonopathy and transport deficits early in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Science* 307:1282-1288.
- Stopford CL, Thompson JC, Neary D, Richardson AM, Snowden JS (2012) Working memory, attention, and executive function in Alzheimer's disease and frontotemporal dementia. *Cortex* 48:429-446.
- Storandt M, Grant EA, Miller JP, Morris JC (2006) Longitudinal course and neuropathologic outcomes in original vs revised MCI and in pre-MCI. *Neurology* 67:467-473.
- Strittmatter WJ, Saunders AM, Schmechel D, Pericak-Vance M, Enghild J, Salvesen GS, Roses AD (1993) Apolipoprotein E: high-avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90:1977-1981.
- Sturchler-Pierrat C, Abramowski D, Duke M, Wiederhold KH, Mistl C, Rothacher S, Ledermann B, Burki K, Frey P, Paganetti PA, Waridel C, Calhoun ME, Jucker M, Probst A, Staufenbiel M, Sommer B (1997) Two amyloid precursor protein transgenic mouse models with Alzheimer disease-like pathology. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94:13287-13292.
- Sugaya K (2008) Mechanism of glial differentiation of neural progenitor cells by amyloid precursor protein. *Neurodegener Dis* 5:170-172.
- Sweatt JD (2004) Mitogen-activated protein kinases in synaptic plasticity and memory. *Curr Opin Neurobiol* 14:311-317.

## T

- Takasugi N, Tomita T, Hayashi I, Tsuruoka M, Niimura M, Takahashi Y, Thinakaran G, Iwatsubo T (2003) The role of presenilin cofactors in the gamma-secretase complex. *Nature* 422:438-441.
- Tako A, Beracochea D, Lescaudron L, Jaffard R (1991) Differential effects of chronic ethanol consumptions or thiamine deficiency on spatial working memory in Balb/c mice: a behavioral and neuroanatomical study. *Neurosci Lett* 123:37-40.
- Taly A, Corringer PJ, Guedin D, Lestage P, Changeux JP (2009) Nicotinic receptors: allosteric transitions and therapeutic targets in the nervous system. *Nat Rev Drug Discov* 8:733-750.
- Tanzi RE, Bertram L (2005) Twenty years of the Alzheimer's disease amyloid hypothesis: a genetic perspective. *Cell* 120:545-555.
- Tanzi RE, Gusella JF, Watkins PC, Bruns GA, St George-Hyslop P, Van Keuren ML, Patterson D, Pagan S, Kurnit DM, Neve RL (1987) Amyloid beta protein gene: cDNA, mRNA distribution, and genetic linkage near the Alzheimer locus. *Science* 235:880-884.
- Tarawneh R, Holtzman DM (2012) The clinical problem of symptomatic Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2:a006148.
- Tata AM, Velluto L, D'Angelo C, Reale M (2014) Cholinergic system dysfunction and neurodegenerative diseases: cause or effect? *CNS Neurol Disord Drug Targets* 13:1294-1303.
- Taylor WD, MacFall JR, Payne ME, McQuoid DR, Provenzale JM, Steffens DC, Krishnan KR (2004) Late-life depression and microstructural abnormalities in dorsolateral prefrontal cortex white matter. *Am J Psychiatry* 161:1293-1296.
- Terry RD (1996) The pathogenesis of Alzheimer disease: an alternative to the amyloid hypothesis. *J Neuropathol Exp Neurol* 55:1023-1025.
- Terry RD, Masliah E, Salmon DP, Butters N, DeTeresa R, Hill R, Hansen LA, Katzman R (1991) Physical basis of cognitive alterations in Alzheimer's disease: synapse loss is the major correlate of cognitive impairment. *Ann Neurol* 30:572-580.
- Thal DR, Rub U, Orantes M, Braak H (2002) Phases of A beta-deposition in the human brain and its relevance for the development of AD. *Neurology* 58:1791-1800.
- Thal DR, Rub U, Schultz C, Sassini I, Ghebremedhin E, Del Tredici K, Braak E, Braak H (2000) Sequence of A beta-protein deposition in the human medial temporal lobe. *J Neuropathol Exp Neurol* 59:733-748.
- Thierry AM, Gioanni Y, Degenetais E, Glowinski J (2000) Hippocampo-prefrontal cortex pathway: anatomical and electrophysiological characteristics. *Hippocampus* 10:411-419.
- Thinakaran G, Koo EH (2008) Amyloid precursor protein trafficking, processing, and function. *J Biol Chem* 283:29615-29619.
- Thomas GM, Huganir RL (2004) MAPK cascade signalling and synaptic plasticity. *Nat Rev Neurosci* 5:173-183.
- Tomic JL, Pensalfini A, Head E, Glabe CG (2009) Soluble fibrillar oligomer levels are elevated in Alzheimer's disease brain and correlate with cognitive dysfunction. *Neurobiol Dis* 35:352-358.
- Tomiyama T, Matsuyama S, Iso H, Umeda T, Takuma H, Ohnishi K, Ishibashi K, Teraoka R, Sakama N, Yamashita T, Nishitsuji K, Ito K, Shimada H, Lambert MP, Klein WL, Mori H (2010) A mouse model of amyloid beta oligomers: their contribution to

- synaptic alteration, abnormal tau phosphorylation, glial activation, and neuronal loss in vivo. *J Neurosci* 30:4845-4856.
- Torres EM, Perry TA, Blockland A, Wilkinson LS, Wiley RG, Lappi DA, Dunnet SB (1994) Behavioural, histochemical and biochemical consequences of selective immunolesions in discrete regions of the basal forebrain cholinergic system. *Neuroscience* 63:95-122.
- Townsend M, Mehta T, Selkoe DJ (2007) Soluble Abeta inhibits specific signal transduction cascades common to the insulin receptor pathway. *J Biol Chem* 282:33305-33312.
- Trent NL, Menard JL (2010) The ventral hippocampus and the lateral septum work in tandem to regulate rats' open-arm exploration in the elevated plus-maze. *Physiol Behav* 101:141-152.
- Trifilieff P, Calandrea L, Herry C, Mons N, Micheau J (2007) Biphasic ERK1/2 activation in both the hippocampus and amygdala may reveal a system consolidation of contextual fear memory. *Neurobiol Learn Mem* 88:424-434.
- Trifilieff P, Herry C, Vanhoutte P, Caboche J, Desmedt A, Riedel G, Mons N, Micheau J (2006) Foreground contextual fear memory consolidation requires two independent phases of hippocampal ERK/CREB activation. *Learn Mem* 13:349-358.
- Tuokko H, Morris C, Ebert P (2005) Mild cognitive impairment and everyday functioning in older adults. *Neurocase* 11:40-47.
- Twamley EW, Ropacki SA, Bondi MW (2006) Neuropsychological and neuroimaging changes in preclinical Alzheimer's disease. *J Int Neuropsychol Soc* 12:707-735.

## U-V

- Uchida S, Maehara T, Hirai N, Okubo Y, Shimizu H (2001) Cortical oscillations in human medial temporal lobe during wakefulness and all-night sleep. *Brain Res* 891:7-19.
- Ujfalussy B, Kiss T, Orban G, Hoffmann WE, Erdi P, Hajos M (2007) Pharmacological and computational analysis of alpha-subunit preferential GABA(A) positive allosteric modulators on the rat septo-hippocampal activity. *Neuropharmacology* 52:733-743.
- Uylings HB, de Brabander JM (2002) Neuronal changes in normal human aging and Alzheimer's disease. *Brain Cogn* 49:268-276.
- Valles AS, Borroni MV, Barrantes FJ (2014) Targeting brain alpha7 nicotinic acetylcholine receptors in Alzheimer's disease: rationale and current status. *CNS Drugs* 28:975-987.
- Van Broeckhoven C, Haan J, Bakker E, Hardy JA, Van Hul W, Wehnert A, Vegter-Van der Vlis M, Roos RA (1990) Amyloid beta protein precursor gene and hereditary cerebral hemorrhage with amyloidosis (Dutch). *Science* 248:1120-1122.
- van der Stelt M, Mazzola C, Esposito G, Matias I, Petrosino S, De Filippis D, Micale V, Steardo L, Drago F, Iuvone T, Di Marzo V (2006) Endocannabinoids and beta-amyloid-induced neurotoxicity in vivo: effect of pharmacological elevation of endocannabinoid levels. *Cell Mol Life Sci* 63:1410-1424.
- van der Zee EA, Luiten PG (1999) Muscarinic acetylcholine receptors in the hippocampus, neocortex and amygdala: a review of immunocytochemical localization in relation to learning and memory. *Prog Neurobiol* 58:409-471.
- Vandesquille M, Baudonnat M, Decorte L, Louis C, Lestage P, Beracochea D (2013) Working memory deficits and related disinhibition of the cAMP/PKA/CREB are alleviated by prefrontal alpha4beta2\*-nAChRs stimulation in aged mice. *Neurobiol Aging* 34:1599-1609.

- Vassar R et al. (1999) Beta-secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. *Science* 286:735-741.
- Vergheze PB, Castellano JM, Holtzman DM (2011) Apolipoprotein E in Alzheimer's disease and other neurological disorders. *Lancet Neurol* 10:241-252.
- Vertes RP, Hoover WB, Viana Di Prisco G (2004) Theta rhythm of the hippocampus: subcortical control and functional significance. *Behav Cogn Neurosci Rev* 3:173-200.
- Villemagne VL, Pike KE, Darby D, Maruff P, Savage G, Ng S, Ackermann U, Cowie TF, Currie J, Chan SG, Jones G, Tochon-Danguy H, O'Keefe G, Masters CL, Rowe CC (2008) Abeta deposits in older non-demented individuals with cognitive decline are indicative of preclinical Alzheimer's disease. *Neuropsychologia* 46:1688-1697.
- Viola KL, Klein WL (2015) Amyloid beta oligomers in Alzheimer's disease pathogenesis, treatment, and diagnosis. *Acta Neuropathol* 129:183-206.

## W

- Wainer BH, Levey AI, Rye DB, Mesulam MM, Mufson EJ (1985) Cholinergic and non-cholinergic septohippocampal pathways. *Neurosci Lett* 54:45-52.
- Wallace TL, Porter RH (2011) Targeting the nicotinic alpha7 acetylcholine receptor to enhance cognition in disease. *Biochem Pharmacol* 82:891-903.
- Walsh DM, Teplow DB (2012) Alzheimer's disease and the amyloid beta-protein. *Prog Mol Biol Transl Sci* 107:101-124.
- Walsh TJ, Herzog CD, Gandhi C, Stackman RW, Wiley RG (1996) Injection of IgG 192-saporin into the medial septum produces cholinergic hypofunction and dose-dependent working memory deficits. *Brain Res* 726:69-79.
- Walsh DM, Tseng BP, Rydel RE, Podlisny MB, Selkoe DJ (2000) The oligomerization of amyloid beta-protein begins intracellularly in cells derived from human brain. *Biochemistry* 39:10831-10839.
- Walsh DM, Hartley DM, Condron MM, Selkoe DJ, Teplow DB (2001) In vitro studies of amyloid beta-protein fibril assembly and toxicity provide clues to the aetiology of Flemish variant (Ala692-->Gly) Alzheimer's disease. *Biochem J* 355:869-877.
- Walsh DM, Klyubin I, Fadeeva JV, Rowan MJ, Selkoe DJ (2002) Amyloid-beta oligomers: their production, toxicity and therapeutic inhibition. *Biochem Soc Trans* 30:552-557.
- Walsh DM, Hartley DM, Kusumoto Y, Fezoui Y, Condron MM, Lomakin A, Benedek GB, Selkoe DJ, Teplow DB (1999) Amyloid beta-protein fibrillogenesis. Structure and biological activity of protofibrillar intermediates. *J Biol Chem* 274:25945-25952.
- Walsh DT, Montero RM, Bresciani LG, Jen AY, Leclercq PD, Saunders D, AN EL-A, Gbadamoshi L, Gentleman SM, Jen LS (2002) Amyloid-beta peptide is toxic to neurons in vivo via indirect mechanisms. *Neurobiol Dis* 10:20-27.
- Wang HY, Lee DH, Davis CB, Shank RP (2000) Amyloid peptide Abeta(1-42) binds selectively and with picomolar affinity to alpha7 nicotinic acetylcholine receptors. *J Neurochem* 75:1155-1161.
- Wang HY, Lee DH, D'Andrea MR, Peterson PA, Shank RP, Reitz AB (2000) beta-Amyloid(1-42) binds to alpha7 nicotinic acetylcholine receptor with high affinity. Implications for Alzheimer's disease pathology. *J Biol Chem* 275:5626-5632.
- Wang HY, Stucky A, Liu J, Shen C, Trocme-Thibierge C, Morain P (2009) Dissociating beta-amyloid from alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor by a novel therapeutic agent, S 24795, normalizes alpha 7 nicotinic acetylcholine and NMDA receptor function in Alzheimer's disease brain. *J Neurosci* 29:10961-10973.

- Wang HY, Bakshi K, Shen C, Frankfurt M, Trocme-Thibierge C, Morain P (2010) S 24795 limits beta-amyloid- $\alpha$ 7 nicotinic receptor interaction and reduces Alzheimer's disease-like pathologies. *Biol Psychiatry* 67:522-530.
- Wang J, Shan C, Cao W, Zhang C, Teng J, Chen J (2013) SCG10 promotes non-amyloidogenic processing of amyloid precursor protein by facilitating its trafficking to the cell surface. *Hum Mol Genet* 22:4888-4900.
- Watanabe T, Iwasaki K, Ishikane S, Naitou T, Yoshimitsu Y, Yamagata N, Ozdemir MB, Takasaki K, Egashira N, Mishima K, Fujiwara M (2008) Spatial memory impairment without apoptosis induced by the combination of beta-amyloid oligomers and cerebral ischemia is related to decreased acetylcholine release in rats. *J Pharmacol Sci* 106:84-91.
- Webster SJ, Bachstetter AD, Van Eldik LJ (2013) Comprehensive behavioral characterization of an APP/PS-1 double knock-in mouse model of Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther* 5:28.
- Webster SJ, Bachstetter AD, Nelson PT, Schmitt FA, Van Eldik LJ (2014) Using mice to model Alzheimer's dementia: an overview of the clinical disease and the preclinical behavioral changes in 10 mouse models. *Front Genet* 5:88.
- Webster B, Hansen L, Adame A, Crews L, Torrance M, Thal L, Masliah E (2006) Astroglial activation of extracellular-regulated kinase in early stages of Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 65:142-151.
- Wei W, Norton DD, Wang X, Kusiak JW (2002) Abeta 17-42 in Alzheimer's disease activates JNK and caspase-8 leading to neuronal apoptosis. *Brain* 125:2036-2043.
- Weintraub S, Wicklund AH, Salmon DP (2012) The neuropsychological profile of Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2:a006171.
- Welsby P, Rowan M, Anwyl R (2006) Nicotinic receptor-mediated enhancement of long-term potentiation involves activation of metabotropic glutamate receptors and ryanodine-sensitive calcium stores in the dentate gyrus. *Eur J Neurosci* 24:3109-3118.
- Wen Y, Yang SH, Liu R, Perez EJ, Brun-Ziukemagel AM, Koulen P, Simpkins JW (2007) Cdk5 is involved in NTF-like tauopathy induced by transient cerebral ischemia in female rats. *Biochem Biophys Acta* 1772: 473-483.
- Wenk GL, Engisch KL (1986) [ $^3$ H]ketanserin (serotonin type 2) binding increases in rat cortex following basal forebrain lesions with ibotenic acid. *J Neurochem* 47:845-850.
- Wenk G, Sweeney J, Hughey D, Carson J, Olton D (1986) Cholinergic function and memory: extensive inhibition of choline acetyltransferase fails to impair radial maze performance in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 25:521-526.
- Wenk G, Hughey D, Boundy V, Kim A, Walker L, Olton D (1987) Neurotransmitters and memory: role of cholinergic, serotonergic, and noradrenergic systems. *Behav Neurosci* 101:325-332.
- Westerman MA, Cooper-Blacketer D, Mariash A, Kotilinek L, Kawarabayashi T, Younkin LH, Carlson GA, Younkin SG, Ashe KH (2002) The relationship between Abeta and memory in the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci* 22:1858-1867.
- Wevers A, Monteggia L, Nowacki S, Bloch W, Schutz U, Lindstrom J, Pereira EF, Eisenberg H, Giacobini E, de Vos RA, Steur EN, Maelicke A, Albuquerque EX, Schroder H (1999) Expression of nicotinic acetylcholine receptor subunits in the cerebral cortex in Alzheimer's disease: histotopographical correlation with amyloid plaques and hyperphosphorylated-tau protein. *Eur J Neurosci* 11:2551-2565.
- Whitehouse PJ, Price DL, Struble RG, Clark AW, Coyle JT, Delon MR (1982) Alzheimer's disease and senile dementia: loss of neurons in the basal forebrain. *Science* 215:1237-1239.

- Whitlock JR, Heynen AJ, Shuler MG, Bear MF (2006) Learning induces long-term potentiation in the hippocampus. *Science* 313:1093-1097.
- Whitmer RA, Sidney S, Selby J, Johnston SC, Yaffe K (2005) Midlife cardiovascular risk factors and risk of dementia in late life. *Neurology* 64:277-281.
- Wimo A, Winblad B, Jonsson L (2010) The worldwide societal costs of dementia: Estimates for 2009. *Alzheimers Dement* 6:98-103.
- Winkler J, Connor DJ, Frautschy SA, Behl C, Waite JJ, Cole GM, Thal LJ (1994) Lack of long-term effects after beta-amyloid protein injections in rat brain. *Neurobiol Aging* 15:601-607.
- Witter MP, Groenewegen HJ, Lopes da Silva FH, Lohman AH (1989) Functional organization of the extrinsic and intrinsic circuitry of the parahippocampal region. *Prog Neurobiol* 33:161-253.
- Wolfe MS, Xia W, Ostaszewski BL, Diehl TS, Kimberly WT, Selkoe DJ (1999) Two transmembrane aspartates in presenilin-1 required for presenilin endoproteolysis and gamma-secretase activity. *Nature* 398:513-517.
- Woolf NJ (1998) A structural basis for memory storage in mammals. *Prog Neurobiol* 55:59-77.
- Woolf NJ, Butcher LL (1986) Cholinergic systems in the rat brain: III. Projections from the pontomesencephalic tegmentum to the thalamus, tectum, basal ganglia, and basal forebrain. *Brain Res Bull* 16:603-637.
- Woolf NJ, Butcher LL (2011) Cholinergic systems mediate action from movement to higher consciousness. *Behav Brain Res* 221:488-498.
- Woolf NJ, Eckenstein F, Butcher LL (1984) Cholinergic systems in the rat brain: I. projections to the limbic telencephalon. *Brain Res Bull* 13:751-784.
- Wu CF, Bertorelli R, Sacconi M, Pepeu G, Consolo S (1988) Decrease of brain acetylcholine release in aging freely-moving rats detected by microdialysis. *Neurobiol Aging* 9:357-361.
- Wu J, Kuo YP, George AA, Xu L, Hu J, Lukas RJ (2004) beta-Amyloid directly inhibits human alpha4beta2-nicotinic acetylcholine receptors heterologously expressed in human SH-EP1 cells. *J Biol Chem* 279:37842-37851.

## X-Y-Z

- Xia W, Zhang J, Ostaszewski BL, Kimberly WT, Seubert P, Koo EH, Shen J, Selkoe DJ (1998) Presenilin 1 regulates the processing of beta-amyloid precursor protein C-terminal fragments and the generation of amyloid beta-protein in endoplasmic reticulum and Golgi. *Biochemistry* 37:16465-16471.
- Xie CW (2004) Calcium-regulated signaling pathways: role in amyloid beta-induced synaptic dysfunction. *Neuromolecular Med* 6:53-64.
- Xiu J, Nordberg A, Zhang JT, Guan ZZ (2005) Expression of nicotinic receptors on primary cultures of rat astrocytes and up-regulation of the alpha7, alpha4 and beta2 subunits in response to nanomolar concentrations of the beta-amyloid peptide(1-42). *Neurochem Int* 47:281-290.
- Xiu J, Nordberg A, Shan KR, Yu WF, Olsson JM, Nordman T, Mousavi M, Guan ZZ (2005) Lovastatin stimulates up-regulation of alpha7 nicotinic receptors in cultured neurons without cholesterol dependency, a mechanism involving production of the alpha-form of secreted amyloid precursor protein. *J Neurosci Res* 82:531-541.
- Yakel JL (2013) Cholinergic receptors: functional role of nicotinic ACh receptors in brain circuits and disease. *Pflugers Arch* 465:441-450.

- Yan R, Bienkowski MJ, Shuck ME, Miao H, Tory MC, Pauley AM, Brashier JR, Stratman NC, Mathews WR, Buhl AE, Carter DB, Tomasselli AG, Parodi LA, Heinrichson RL, Gurney ME (1999) Membrane-anchored aspartyl protease with Alzheimer's disease beta-secretase activity. *Nature* 402:533-537.
- Yao YY, Wu QS, Li WZ, Li WP (2011) Dexamethasone potentiated A $\beta$ -induced learning and memory impairment in rats. *Neurol Res* 33:371-380.
- Yehuda S, Rabinovitz S, Carasso RL, Mostofsky DI (2002) The role of polyunsaturated fatty acids in restoring the aging neuronal membrane. *Neurobiol Aging* 23:843-853.
- Yoshikawa K (2000) [Molecular mechanisms of differentiation and death of human neurons: with special reference to *necdin* and APP]. *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi* 20:155-159.
- Young KF, Pasternak SH, Rylett RJ (2009) Oligomeric aggregates of amyloid beta peptide 1-42 activate ERK/MAPK in SH-SY5Y cells via the  $\alpha$ 7 nicotinic receptor. *Neurochem Int* 55:796-801.
- Young JW, Meves JM, Tarantino IS, Caldwell S, Geyer MA (2011) Delayed procedural learning in  $\alpha$ 7-nicotinic acetylcholine receptor knockout mice. *Genes Brain Behav* 10:720-733.
- Yu CR, Role LW (1998) Functional contribution of the  $\alpha$ 7 subunit to multiple subtypes of nicotinic receptors in embryonic chick sympathetic neurones. *J Physiol* 509 ( Pt 3):651-665.
- Zaheer A, Zaheer S, Thangavel R, Wu Y, Sahu SK, Yang B (2008) Glia maturation factor modulates beta-amyloid-induced glial activation, inflammatory cytokine/chemokine production and neuronal damage. *Brain Res* 1208:192-203.
- Zarrindast MR, Ardjmand A, Ahmadi S, Rezayof A (2012) Activation of dopamine D1 receptors in the medial septum improves scopolamine-induced amnesia in the dorsal hippocampus. *Behav Brain Res* 229:68-73.
- Zempel H, Thies E, Mandelkow E, Mandelkow EM (2010) A $\beta$  oligomers cause localized Ca(2+) elevation, missorting of endogenous Tau into dendrites, Tau phosphorylation, and destruction of microtubules and spines. *J Neurosci* 30:11938-11950.
- Zhang C, Cheng Y, Wang H, Wang C, Wilson SP, Xu J, Zhang HT (2014) RNA interference-mediated knockdown of long-form phosphodiesterase-4D (PDE4D) enzyme reverses amyloid-beta42-induced memory deficits in mice. *J Alzheimers Dis* 38:269-280.
- Zhang L, Fang Y, Xu Y, Lian Y, Xie N, Wu T, Zhang H, Sun L, Zhang R, Wang Z (2015) Curcumin Improves Amyloid beta-Peptide (1-42) Induced Spatial Memory Deficits through BDNF-ERK Signaling Pathway. *PLoS One* 10:e0131525.
- Zhao H, Dreses-Werringloer U, Davies P, Marambaud P (2008) Amyloid-beta peptide degradation in cell cultures by mycoplasma contaminants. *BMC Res Notes* 1:38.
- Zhi WH, Zeng YY, Lu ZH, Qu WJ, Chen WX, Chen L (2014) Simvastatin exerts anti-amnesic effect in A $\beta$ 25-35-injected mice. *CNS Neurosci Ther* 20:218-226.
- Zhou J, Seeley WW (2014) Network dysfunction in Alzheimer's disease and frontotemporal dementia: implications for psychiatry. *Biol Psychiatry* 75:565-573.
- Zhu X, Lee HG, Raina AK, Perry G, Smith MA (2002) The role of mitogen-activated protein kinase pathways in Alzheimer's disease. *Neurosignals* 11:270-281.